

Untersuchung von intrazellulären
Osmolytkonzentrationen im Hirn nach
Dehydratation durch Ausdauerbelastung:
nicht-invasive Erfassung mit der lokalisierten
 ^1H -Magnetresonanztomographie

Inauguraldissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor philosophiae
(Dr. phil.)
im Fach Sportwissenschaft

eingereicht an der
Philosophische Fakultät IV
Humboldt-Universität zu Berlin

von
Bolliger Marc
geboren am 08.02.1973 in Allschwil, Schweiz

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin:
Prof. Dr. Jürgen Mlynek

Dekan der Philosophische Fakultät IV:
Prof. Dr. phil. Dietrich Brenner

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Roland Wolff
2. Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Dr. med. Harald Bruhn

Tag der mündlichen Prüfung: 30. November 2005

Abstract

Introduction: The adverse effects of dehydration (Dehy) on the physical performance of man have been intensely investigated in the past. Nevertheless there are no human studies assessing the physiological consequences of Dehy on brain metabolites. In the present study the influence of Dehy on cerebral volume regulatory metabolites (myo-Inositol (mI), N-Acetyl-aspartata+N-Acetyl-aspartyl-glutamate (tNAA), Creatine (Cr), Glycerophosphocholine+Phosphocholine (Cho) and Glutamate+Glutamine (Glx)) and fluid shifts has been investigated for the first time in humans.

Methods: 14 endurance trained cyclists (26.6 (22.7/29.8) y, median and 25./75. percentile) have been examined with proton NMR spectroscopy (¹H-MRS) in the occipitoparietal gray matter (GM) and the right (WMR) and left (WML) parietal with matter (GE Signa Horizon 3T94; PRESS: TE 30ms, TR 6000ms, VOI 8ml, analysis with LCModel). Spectra were acquired before (Euhy), immediately after Dehy and after rehydration (Rehy). Rehy took place during 180min and 150% of lost body weight was substituted. Additionally the atrophy index alpha (ratio between cerebral water and liquor) was assessed (T2 relaxation time of water, TE: 30-1500ms, TR=10.000ms).

Results: Body weights of volunteers has been decreased 3.7 (3.4/4.1)% after Dehy and increased 4.5 (3.7/5.3)% after Rehy (Wilcoxon: $p < 0.001$). Hemoconcentration and hemodilution respectively occurred (hematocrit: 40,2 (38,9/42,2) vs. 42,5 (40,5/44,7) vs. 40,2% (38,1/43,0); osmolality: 284 (283/285) vs. 294 (293/297) vs. 285 (283/286) mOsmol/kg; $p < 0,01$). Metabolites mI, tNAA, Cr and Cho showed no changes. Glx increased after Dehy in GM and WML significantly (11/ 14%). In WMR an increase of Glx was also observed but was not significant. Alpha did not change after Dehy.

Conclusion: Moderate Dehy due to endurance performance results in no changes in the metabolites mI, tNAA, Cr and Cho. The increase of Glx, observed for the first time in vivo in human, could be interpreted as a volume regulatory response of the brain as a consequence of the increasing plasma osmolality or as a result of cerebral ammonia accumulation and consequently as a manifestation of cerebral fatigue due to physical endurance activity.

Keywords:

proton NMR spectroscopy, dehydration, osmolyte, brain

Zusammenfassung

Einleitung: Die Auswirkungen von Dehydratation (Dehyd) auf die Leistungsfähigkeit des Menschen ist in der Vergangenheit intensiv erforscht worden. Dennoch liegen keine Studien vor, die untersuchen, ob Dehyd physiologischen Änderungen von Hirnmetaboliten hervorruft. Mit der vorliegenden Studie wurden zum ersten Mal *in vivo* die Auswirkungen von Dehyd und anschließender Rehydratation (Rehyd) auf cerebrale volumenregulatorische Metabolite (*myo*-Inosit (mI), N-Azetylaspartat + N-Azetylaspartylglutamat (tNAA), Kreatin (Cr), Glycerophosphocholin + Phosphocholin (Cho) und Glutamat+Glutamin (Glx)) sowie auf Flüssigkeitsverschiebungen untersucht.

Methoden: Es wurden 14 ausdauertrainierte Radsportler (26.6 (22.7/29.8) Jahre, Median und 25./75. Perzentile) mittels ^1H -Spektroskopie (^1H -MRS) in der okzipitoparietalen grauen Substanz (GM) und parietalen weißen Substanz rechts (WMR) und links (WML) untersucht (GE Signa Horizon 3T94; PRESS: TE 30ms, TR 6000ms, VOI 8ml, Auswertung LCModel). Die Messungen erfolgten vor (Euhyd), direkt nach Dehyd und nach Rehyd (180min, Zufuhr von 150% der verlorenen Körpermasse). Zusätzlich wurde durch T_2 -Relaxationsmessungen (TE: 30-1500ms bei TR=10.000ms) der Atrophieindex α (Verhältnis cerebrales Gewebewasser (HW) zu Liquor (CSF)) bestimmt.

Resultate: Die Körpermasse der Probanden reduzierte sich durch Dehyd um 3.7 (3.4/4.1)% und stieg durch Rehyd wieder um 4.5 (3.7/5.3)% an (Wilcoxon: $p < 0.001$). Es erfolgte eine Hämokonzentration bzw. -dilution (Hämatokrit: 40,2 (38,9/42,2) vs. 42,5 (40,5/44,7) vs. 40,2% (38,1/43,0); Osmolalität 284 (283/285) vs. 294 (293/297) vs. 285 (283/286) mOsmol/kg; $p < 0,01$). Die Metabolite mI, tNAA, Cr und Cho änderten sich nicht. Glx stieg nach Dehyd in GM und in WML signifikant an (11 bzw. 14%). In WMR war der Anstieg nicht signifikant. α änderte sich nach Dehyd nicht.

Schlussfolgerung: Die durch Belastung induzierte Dehyd hatte keine Änderungen der durch die ^1H -MRS erfassbaren Metabolite mI, tNAA, Cr und Cho zur Folge. Der erstmals beim Menschen *in vivo* beschriebene belastungsinduzierte Anstieg von Glx kann sowohl als eine volumenregulatorischen Antwort auf die steigende Plasmaosmolalität aufgefasst werden, als auch als Folge einer cerebralen Ammoniakakkumulation (bzw. der Deaminierung von Ammoniak über die Glutaminsynthese) und somit als Manifestation einer zentralen Ermüdung bei langandauernden Belastungen betrachtet werden.

Schlagwörter:

Protonen-MR-Spektroskopie, Dehydratation, Osmolyte, Hirn

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Theorie	4
2.1	Physikalische Grundlagen	4
2.1.1	Kernspin und magnetisches Moment	4
2.1.2	Atomkern im Magnetfeld	5
2.1.3	Relaxation	7
2.1.4	Freier Induktionsabfall, Spin-Echo und stimulierte Echo	8
2.1.5	Die chemische Verschiebung - Chemical Shift	9
2.1.6	Spin-Spin-Kopplung	9
2.1.7	Suszeptibilität	10
2.1.8	Feld-Inhomogenität	10
2.1.9	Ortsauflösung mittels Gradientenfelder	11
2.1.10	Lokalisation von MR-Spektren	11
2.1.11	Einzelvolumen-Spektroskopie	12
2.2	Quantifizierung spektroskopischer Daten	14
2.2.1	Hirnmetaboliten in der <i>in vivo</i> ^1H -MR-Spektroskopie	14
2.2.2	Quantifizierung	18
2.2.3	Absolut- und Relativbestimmung	19
	2.2.3.1 Partielle Sättigung (T_1 -Relaxation)	19
	2.2.3.2 Transversale Relaxation (T_2 -Relaxation)	19
	2.2.3.3 Voxelzusammensetzung (Kompartimentierung)	20
2.3	Physiologische Grundlagen	22
2.3.1	Körpertemperatur	22
2.3.2	Dehydratation	23
	2.3.2.1 Folgen der Dehydratation	25
2.3.3	Zellvolumenregulation	26
	2.3.3.1 Mechanismus der Osmolytregulation	29

2.3.4	Die Blut-Hirn-Schranke	29
2.3.5	Die Auswirkungen von langandauernden aeroben Belastungen auf das Hirn	30
2.4	Herleitung der Fragestellung	33
3	Methoden	36
3.1	Spektroskopie	37
3.1.1	Hardware	37
3.1.2	Software	37
3.1.2.1	Datenverarbeitung	37
3.2	Reproduzierbarkeit der ^1H -MR Spektroskopie	43
3.3	Dehydratationsstudie	43
3.3.1	Studiendesign	43
3.3.1.1	NMR-Untersuchung	44
3.3.1.2	Dehydratationsphase	45
3.3.1.3	Rehydratationsphase	46
3.3.1.4	Probanden	46
3.3.1.5	Leistungsdiagnostik	47
3.3.1.6	Blutanalysen	49
3.4	Marathonstudie	51
3.4.1	Studiendesign	51
3.4.1.1	NMR-Untersuchung	51
3.4.1.2	Versuchsablauf	52
3.4.1.3	Probanden	52
3.4.1.4	Blutanalysen	53
3.5	Statistik	54
3.5.1	Reproduzierbarkeitsstudie	54
3.5.2	Dehydratationsstudie	54
3.5.3	Marathonstudie	54
4	Ergebnisse	55
4.1	Reproduzierbarkeitsstudie	55
4.2	Dehydratationsstudie	57
4.2.1	Blutparameter	58
4.2.2	Körpermasse	61
4.2.3	Körpertemperatur	61
4.2.4	Relative Metabolitkonzentrationen	61

4.2.5	Absolute Metabolitkonzentrationen	64
4.2.6	Atrophieindex	66
4.3	Marathonstudie	67
4.3.1	Blutparameter	67
4.3.2	Körpermasse	67
4.3.3	Relative Metabolitkonzentrationen	68
4.3.4	Absolute Metabolitkonzentrationen	68
4.3.5	Atrophieindex	68
5	Diskussion	70
5.1	Reproduzierbarkeitsstudie	71
5.2	Dehydrationsstudie	72
5.2.1	Blutparameter	72
5.2.2	Körpermasse	73
5.2.3	Körpertemperatur	74
5.2.4	Absolute und relative Metabolitkonzentrationen	74
5.2.5	Atrophieindex	80
5.2.6	Zusammenfassung	81
5.3	Marathonstudie	82
5.3.1	Blutparameter und Körpermasse	82
5.3.2	Absolute und relative Metabolitkonzentrationen	82
5.3.3	Atrophieindex	82
5.4	Methodenkritik	83
5.5	Weiterführende Untersuchungen	84
6	Zusammenfassung	85
A	Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	103
A.1	Symbol- und Variablenverzeichnis	103
A.2	Abkürzungsverzeichnis	105
B	Danksagung	107

Abbildungsverzeichnis

2.1	Relaxation von T_1 und T_2	8
2.2	Anregungsschichten der Einzelvolumen-Spektroskopie	12
2.3	Zeitdiagramm einer STEAM-Lokalisierungssequenz	13
2.4	Zeitdiagramm einer PRESS-Lokalisierungssequenz	14
2.5	Protonen MR-Spektren aus der weißen und grauen Hirnsubstanz	16
2.6	Physiologische Auswirkungen einer Dehydratation	27
2.7	Mechanismus der Zellvolumenkorrektur	28
3.1	Aufhängung für die Messung der Metaboliten	39
3.2	Laktatspektrum mit Referenzresonanzen	40
3.3	Grundspektren der Metaboliten Ala bis GPC	41
3.4	Grundspektren der Metaboliten Gly bis Tau	42
3.5	Platzierung der Untersuchungsvolumina	44
4.1	Repräsentatives in LCModel ausgewertetes <i>in vitro</i> Spektrum	56
4.2	Verlauf der Elektrolyte	59
4.3	Verlauf der Blutparameter Hb, Hkt, PV und Osm	60
4.4	Körpermassenverlauf	61
4.5	Repräsentatives in LCModel ausgewertetes <i>in vivo</i> Spektrum	62
4.6	T_2 -Relaxation des Wassersignals der parietalen grauen Substanz	66
5.1	Verteilung des Flüssigkeitsverlust aus Plasma, interstitieller und intra- zellulärer Flüssigkeit	73

Tabellenverzeichnis

2.1	Chemische Verschiebung δ	15
3.1	Zusammensetzung der Stammlösung	38
3.2	Metabolite für Grundspektren	39
3.3	Anthropometrische Daten der Probanden der Dehydratationsstudie . .	47
3.4	Anthropometrische Daten der Probanden vom <i>real</i> ,-Berlin-Marathon . .	53
4.1	Relative Metabolitenkonzentrationen der Phantommessung	56
4.2	Absolute Metabolitenkonzentrationen der Phantommessung	57
4.3	Blutparameter der Probanden der Dehydratationsstudie	58
4.4	Relative Metabolitkonzentrationen der okzipitoparietalen grauen Substanz	63
4.5	Relative Metabolitkonzentrationen der parietalen weißen Substanz rechts	63
4.6	Relative Metabolitkonzentrationen der parietalen weißen Substanz links	63
4.7	Absolute Metabolitkonzentrationen der okzipitoparietalen grauen Sub- stanz	64
4.8	Absolute Metabolitkonzentrationen der parietalen weißen Substanz rechts	65
4.9	Absolute Metabolitkonzentrationen der parietalen weißen Substanz links	65
4.10	Absolute Metabolitkonzentrationen der parietalen weißen Substanz rechts und links	65
4.11	Atrophieindex α	66
4.12	Blutparameter der Probanden vom <i>real</i> ,-Berlin Marathon	67
4.13	Relative Metabolitkonzentrationen der okzipitoparietalen grauen Sub- stanz der Marathonstudie	68
4.14	Relative Metabolitkonzentrationen der parietalen weißen Substanz rechts der Marathonstudie	68
4.15	Absolute Metabolitkonzentrationen der okzipitoparietalen grauen Sub- stanz der Marathonstudie	69

4.16	Absolute Metabolitkonzentrationen der parietalen weißen Substanz der Marathonstudie	69
4.17	Atrophieindex α	69
5.1	Variationskoeffizienten von relativen Metabolitenkonzentrationen	72
5.2	Variationskoeffizienten von absoluten Metabolitenkonzentrationen . . .	72

Kapitel 1

Einleitung

Die *in vivo* Magnetresonanz-Spektroskopie (MRS) hat ihren Ursprung in der Entdeckung der *kernmagnetischen Resonanz* (NMR, *Nuclear Magnetic Resonance*). Sie wurde im Jahre 1945 unabhängig voneinander durch Purcell, Torrey und Pound am MIT in Cambridge [123] bzw. Bloch, Hansen und Packard in Stanford [8] entdeckt. Purcell und Bloch wurden 1952 für ihre Entdeckung mit dem Nobelpreis für Physik ausgezeichnet.

Zuerst wurde die NMR nur als physikalische Methode genutzt, um die magnetischen Eigenschaften von Atomkernen zu messen. Procter und Yu [119] bzw. Dickinson [41] zeigten, dass das NMR-Signal von der chemischen Umgebung des beobachteten Kerns abhängig ist. Dieser Effekt wird *Chemische Verschiebung* (Chemical Shift) genannt und erlaubt ein chemisches Molekül anhand der relativen Frequenzverschiebung seines NMR-Signals zu charakterisieren. Diese Entdeckung brachte die *Hochauflösungs-NMR* hervor, die sich zu einer der wichtigsten Untersuchungsmethoden für die Aufklärung der Struktur von Molekülen in der organischen Chemie und in letzter Zeit auch von Biomolekülen entwickelte [68].

Ernst und Anderson [45] trugen 1966 mit der Einführung der gepulsten Anregung der Kerne in einer Kombination mit einer Fourier-Transformation des Signals zu einem weiteren entscheidenden Schritt in der Weiterentwicklung der NMR bei, indem sie die Empfindlichkeit der Methode drastisch steigerten. Die Arbeit von Ernst wurde 1991 mit dem Nobelpreis für Chemie geehrt.

Den Grundstein für die Bildgebung (MRI, *Magnetic Resonance Imaging*) legte in den frühen 70iger Jahren die Arbeit von Lauterbur [82]. Er entdeckte, dass die Überlagerung des statischen Magnetfeldes mit einem ortsabhängigen Magnetfeld eine räumliche Zuordnung der NMR-Signale erlaubt. Mit der Weiterentwicklung dieses Konzepts durch die Arbeitsgruppe von Peter Mansfield in Nottingham, z.B. der Einführung der

Spin-Warp-Technik, etablierte sich die MRI dann rasch in der klinischen Bildgebung und wurde unter dem Namen *Kerspintomographie* bzw. *Magnetresonanztomographie* bekannt. Die Forschung zur Entwicklung der MRI haben Lauterbur zusammen mit Mansfield 2003 den Nobelpreis für Medizin eingebracht.

Zu Beginn wurde die kernmagnetische Resonanz in der Medizin nur für die Bildgebung genutzt. In den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts erfolgte die Entwicklung von klinisch einsetzbaren Lokalisationstechniken (STEAM, PRESS) für die *in vivo* NMR-Spektroskopie [13, 51] und erste Anwendungen der räumlich aufgelösten ^1H -Spektroskopie von Hirnmetaboliten wurden bereits 1988-89 publiziert [48, 49].

Mit der NMR-Spektroskopie steht heute eine Methode zur Verfügung, mit der zuverlässige nichtinvasive Beobachtungen des Hirnmetabolismus möglich sind. Mit der orts aufgelösten Protonenspektroskopie sind Metabolitverschiebungen, wie sie bei pathologischen Stoffwechselstörungen auftreten, *in vivo* seit 1989 [49, 48] in bis heute ansteigender Zahl nachgewiesen und quantifiziert worden [19, 20, 43, 76, 94, 128].

Auch für die Sportmedizin sind Stoffwechselvorgänge im Hirn von großem Interesse, da sie z.B. auch mit einer Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit einhergehen können. So kann z.B. eine Dehydratation, die durch eine aerobe Belastung induziert wurde, zentralnervöse Störungen, wie visuelle, kognitive, koordinative und emotionale Beeinträchtigungen auslösen. Ob diese Folgen durch eine Störung des Hirnmetabolismus oder durch einen Verlust von Wasser- und/ oder von Elektrolyten entsteht, ist nicht bekannt. NMR-Untersuchungen von Patienten mit chronischen Elektrolytverschiebungen haben ergeben, dass im Hirn eine Verschiebung von osmotisch aktiven Metaboliten (Osmolyten) messbar ist [83, 125, 149]. Diese Konzentrationsänderungen der Osmolyte wurden der Fähigkeit des Hirns, sich auf ändernde osmotische Bedingungen einzustellen und damit den Wassergehalt zu kontrollieren, zugeschrieben. Wie schnell dieser Prozess vor sich geht ist nicht bekannt.

Eine weitere Fragestellung, die in der Sportmedizin untersucht wird, ist die Entstehung von zentraler Ermüdung. Aerobe Ausdauerleistungen sind mit metabolischen und neurohumoralen Veränderungen im Hirn verbunden. Diese Veränderungen werden als Ursache für die zentrale Ermüdung angesehen. Verschiedene Theorien, die die Akkumulation oder den Abbau von verschiedenen Substanzen im Hirn als Ursache für die zentrale Ermüdung sehen, wurden aufgestellt [9, 11, 30, 62, 105]. Diese Theorien konnten aber *in vivo* im Hirngewebe des Menschen noch nicht nachgewiesen werden.

Die ^1H -Spektroskopie bietet die Möglichkeit Konzentrationsänderungen von Osmolyten, die mit der Flüssigkeitsregulation verknüpft sind, *in vivo* zu messen. Auch gewisse Metaboliten, bei denen im Tiermodell schon gezeigt werden konnte, dass sie

mit der zentralen Ermüdung verknüpft sind, sind mittels der ^1H -Spektroskopie zugänglich. Mit dieser Arbeit soll mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie untersucht werden, ob bei einer Dehydratation, die durch aerobe Ausdauerleistung verursacht wurde, eine Veränderung von ausgewählten zerebralen Osmolyte beobachtet werden kann. In einer zweiten Fragestellung wird die Auswirkung einer langandauernden Ausdauerbelastung mit Flüssigkeitszufuhr auf das Hirn untersucht.

Kapitel 2

Theorie

Im ersten Teil dieses Kapitels werden die Grundlagen der ^1H -Spektroskopie (^1H -NMR) dargestellt, soweit sie für diese Arbeit von besonderer Relevanz sind. Es werden nur die wichtigsten Aspekte behandelt. Als weiterführende Literatur sei hier auf Nouha Salibi [129] und David D. Stark & William G. Bradley [142] verwiesen. Im zweiten Teil werden die theoretischen und physiologischen Grundlagen der in dieser Arbeit behandelten Themen erörtert.

2.1 Physikalische Grundlagen

2.1.1 Kernspin und magnetisches Moment

Um das Verhalten eines Atoms in einem Magnetfeld beschreiben zu können, muss sein Aufbau bekannt sein. In einem Atom kommen die drei Teilchen Protonen, Neutronen und Elektronen in unterschiedlichen Verhältnissen vor. Soll ein Molekül mittels der *magnetischen Kernresonanz-Spektroskopie* (nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR spectroscopy) untersucht werden, muss es einen *Kerndrehimpuls* bzw. *Kernspin* $\vec{I} \neq 0$ besitzen. Dies ist der Fall, wenn die Anzahl der Protonen und/ oder Neutronen eines Atomkerns ungerade ist. Der Kernspin beschreibt laut Quantenmechanik den Drehimpuls des aus Protonen und Neutronen bestehenden Atomkerns mit der *Spinquantenzahl* I . Zu jedem Kernspin gehört ein charakteristisches magnetisches *Kernmoment* $\vec{\mu}$. Stellt man sich den Kern eines Atoms als positiv geladene rotierende Kugel vor, so entsteht durch die positive Ladung ein Kreisstrom, der ein magnetisches Dipolfeld induziert. Das magnetische Kernmoment beschreibt Richtung und Betrag dieses Dipolfeldes.

Zwischen dem magnetischen Kernmoment und dem Kernspin besteht die Beziehung

$$\vec{\mu} = \gamma \cdot \hbar \cdot \vec{I}; \quad \hbar = \frac{h}{2\pi} \quad (2.1)$$

wobei γ für das gyromagnetische Verhältnis und \hbar für das Plancksche Wirkungsquantum steht. Das gyromagnetische Verhältnis beschreibt das Verhältnis zwischen dem Kernmoment und dem Drehimpuls und hat für jede Kernart eine spezifische Größe.

Nahezu jedes in der Natur vorkommende Element besitzt mindestens ein Isotop mit einem Kernspin. Aus diesem Grund kann fast jedes Element mit Hilfe der NMR-Spektroskopie untersucht werden. Auf Grund von folgenden Überlegungen hat man sich jedoch in der medizinischen NMR-Bildgebung auf den Kern des Wasserstoffatoms beschränkt.

- In biologischem Gewebe kommt das Wasserstoffatom ^1H , d.h. das Proton, weitaus am häufigsten vor.
- Das ^1H besitzt von allen Isotopen die höchste NMR Sensitivität.
- Das Wasserstoffatom ^1H besitzt von allen stabilen Isotopen das größte gyromagnetische Verhältnis.

In der *in vivo* Spektroskopie werden neben dem Wasserstoffatom hauptsächlich noch folgende Atome untersucht: ^{14}N , ^{19}F , ^{23}Na , ^{13}C und ^{31}P . Auch sie besitzen eine relativ hohe natürliche Häufigkeit und ein grosses gyromagnetisches Verhältnis.

2.1.2 Atomkern im Magnetfeld

Betrachtet man Atome mit dem Kernmoment $\vec{\mu}$ außerhalb eines magnetischen Feldes, sind alle Orientierungen der Kernmomente energetisch gleichwertig. Deshalb würde eine Vektoraddition aller gleichwertigen Spins in der Summe null ergeben. Werden die Atome in ein statisches homogenes Magnetfeld B_0 , welches in z-Richtung zeigt eingebracht, so haben die Kerne die zusätzliche potentielle Energie

$$E = \mu_z \cdot B_0 \quad (2.2)$$

wobei μ_z , die z-Komponente des magnetischen Moments, nur die diskreten Werte $\mu_z = \gamma \hbar m$ (mit $m = -I, -I + 1, \dots, 0, 1, \dots, I - 1, I$) annehmen kann. Daraus folgt, dass es $2I + 1$ äquidistante Energiezustände, die sogenannten *Kern-Zeeman-Niveaus* gibt:

$$E_m = \gamma \hbar m \cdot B_0 \quad (2.3)$$

Der Übergang zwischen zwei Zeeman-Niveaus kann nur durch ein von außen induziertes, zeitabhängiges elektromagnetisches Hochfrequenzfeld hervorgerufen werden. Diesen Effekt nennt man *magnetische Resonanz* (MR). Es können nur Übergänge zwischen zwei benachbarten Zeeman-Niveaus induziert werden, d.h., die Regel $\Delta m = \pm 1$ muss erfüllt sein. Daraus folgt, dass aus dem bekannten Energieabstand $\Delta E = \hbar\omega_0$ bzw. $\Delta E = \gamma\hbar B_0$ zwischen zwei benachbarten Zeeman-Niveaus und $\Delta E = \hbar\omega_{HF}$ sich die folgende Resonanzbedingung ergibt

$$\begin{aligned}\omega_{HF} &= \omega_0 \\ &= \gamma B_0\end{aligned}\tag{2.4}$$

Dabei entspricht ω_{HF} der Kreisfrequenz des magnetischen Hochfrequenzfeldes und ω_0 der Larmorfrequenz.

Die meisten Kerne, die in biologischen Systemen mit Hilfe der MR untersucht werden, haben einen Kernspin von $I = 1/2$. Die magnetischen Kernmomente dieser Kerne können als parallele bzw. antiparallele Einstellung zum äußeren Magnetfeld dargestellt werden. Die beiden Richtungseinstellungen (parallel-antiparallel) entsprechen dabei zwei unterschiedlichen Energiezuständen E_α und E_β . Durch die Boltzmann-Verteilung wird festgelegt, wie sich das thermische Gleichgewicht zwischen den beiden Spinpopulationen einstellt:

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = \exp\left(-\frac{\Delta E}{kT}\right)\tag{2.5}$$

Dabei bezeichnet N_β die Zahl der Spins im energiereicheren Niveau ($I = -1/2$), T die absolute Temperatur und k die Boltzmann-Konstante. Auf Grund der geringfügig höheren Besetzung des energetisch günstigeren Zustandes $I = 1/2$ ist im thermischen Gleichgewicht eine *makroskopische Kernmagnetisierung* \vec{M}_0 in Richtung des statischen Magnetfeldes \vec{B}_0 messbar. Der Betrag M_0 der *Gleichgewichtsmagnetisierung* lässt sich darstellen als

$$M_0 = \frac{1}{V} \sum_{i=1}^N (\mu_z) = \frac{N}{V} \cdot \frac{I(I+1)\gamma^2\hbar^2 B_0}{3kT}\tag{2.6}$$

mit N = Gesamtzahl der magnetischen Momente der Probe und V = Volumen der Probe. Die Kernmagnetisierung kann durch ein magnetisches Hochfrequenzfeld $\vec{B}_1(t)$ (HF-Feld), dessen Frequenz ω_{HF} mit der Larmorfrequenz ω_0 übereinstimmt, aus dem thermischen Gleichgewicht gebracht werden. Das magnetische Moment $\vec{\mu}$ nimmt auf Grund der Richtungsquantelung nur bestimmte Orientierungen bezüglich des \vec{B}_0 -Feldes ein. Die makroskopische Magnetisierung \vec{M} hingegen kann in jede beliebige Richtung gedreht werden. Wirkt während der Zeitdauer t_p ein HF-Feld auf die Magnetisierung \vec{M} , so erfolgt eine Auslenkung der Magnetisierung um den Winkel

$$\begin{aligned}
\alpha &= \omega_1 t_p \\
&= \gamma B_1 t_p
\end{aligned}
\tag{2.7}$$

Wird die Zeitdauer t_p für das HF-Feld so gewählt, dass sich die Magnetisierung um den Winkel 90° dreht, so bezeichnet man den Impuls als 90° - oder $\pi/2$ -Impuls. Ein doppelt so langer HF-Puls bei demselben B_1 -Feld dreht die Magnetisierung aus der positiven in die negative z -Richtung. Man spricht von einem 180° - oder π -Impuls.

Die Magnetisierung \vec{M} kann in zwei Vektoren zerlegt werden: in die *Längsmagnetisierung* M_z , die parallel zur Achse des äußeren \vec{B}_0 -Feldes steht und die *Quermagnetisierung* M_{xy} , die senkrecht zu dieser Achse steht.

2.1.3 Relaxation

Ein Spinsystem, das aus dem thermischen Gleichgewicht gebracht wurde, ist bestrebt, wieder in den ursprünglichen Zustand ($M_{xy} = 0, M_z = 0$) zurückzukehren. Dieser Prozess wird *Relaxation* genannt. Die Relaxation muss für die Längsmagnetisierung und die Quermagnetisierung getrennt betrachtet werden.

Physikalisch werden unterschieden a) die Spin-Gitter-Relaxation und b) die Spin-Spin-Relaxation.

a) Spin-Gitter-Relaxation: Die *Spin-Gitter-Relaxation* bezeichnet die Relaxation der Längsmagnetisierung M_z , d.h. den exponentiellen Wiederaufbau der Längsmagnetisierung entlang des statischen Magnetfeldes B_0 . In der NMR wird die Spin-Gitter-Relaxation durch die *Spin-Gitter-Relaxationszeit* T_1 beschrieben. Sie entspricht der Zeit, in der die Längsmagnetisierung M_z nach einem 90° -Impuls wieder auf 63% des Ausgangswertes M_0 angestiegen ist.

b) Spin-Spin-Relaxation: Die *Spin-Spin-Relaxation* bezeichnet die Relaxation der Quermagnetisierung M_{xy} , bzw. den exponentiellen Abfall der Quermagnetisierung. Die Spin-Spin-Relaxation wird durch die *Spin-Spin-Relaxationszeit* T_2 beschrieben und entspricht der Zeit, in der die Quermagnetisierung M_{xy} auf 37% ihres Ausgangswertes abgefallen ist.

Sowohl T_1 als auch T_2 beschreiben die Rückkehr des angeregten Spinsystems in den Gleichgewichtszustand (Abbildung 2.1). Dieser Prozess unterliegt bestimmten Gesetzmäßigkeiten, die von der Wechselwirkung der Spins untereinander und dem umgebenden Molekülgitter bestimmt werden. Die Größen der Relaxationszeiten T_1 und

T_2 können stark variieren. So laufen Relaxationsprozesse in Flüssigkeiten und Festkörpern unterschiedlich schnell ab. Biologisches Gewebe kann als viskose Flüssigkeit beschrieben werden, da es sich von seinen Eigenschaften her zwischen Flüssigkeiten und Festkörpern einteilen lässt. Vor allem wegen des unterschiedlichen Wassergehalts der verschiedenen biologischen Gewebe differieren die Relaxationsprozesse je nach Gewebetyp. Die Unterschiede der Relaxationszeiten in unterschiedlichem Gewebe sind in erster Linie verantwortlich für den Kontrast zwischen den Geweben in der bildgebenden Magnetresonanz-Tomographie (MRT). Im biologischem Gewebe liegen die T_2 -Zeiten meist weit unter den T_1 -Zeiten ($T_2 \ll T_1$).

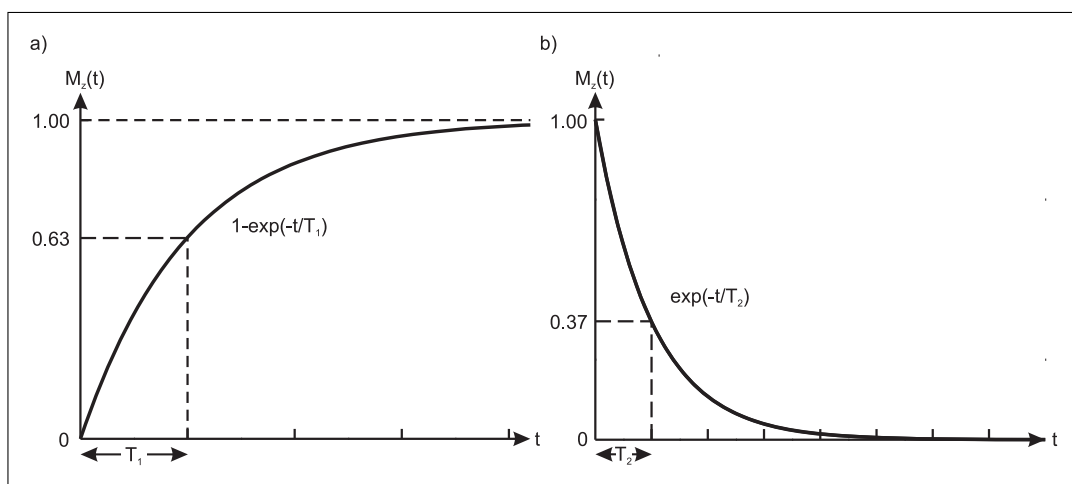


Abbildung 2.1: Relaxation von T_1 und T_2 nach einem 90° -Impuls. a) Die Längsmagnetisierung relaxiert gegen den Ausgangswert $M_0=1$. b) Die Quermagnetisierung relaxiert gegen den Wert $M_{xy}=0$.

2.1.4 Freier Induktionsabfall, Spin-Echo und stimulierte Echo

Nach einem Anregungsimpuls kehrt das Spinsystem durch Relaxation in den Gleichgewichtszustand zurück. Dabei geben die Kerne die aufgenommene Energie in Form von elektromagnetischer Strahlung wieder ab. Dies induziert in der Empfängerspule eine schwache Hochfrequenzspannung, das NMR-Signal. Man nennt das Signal *freier Induktionsabfall* oder kurz *FID* (Free Induction Decay). Durch die Fourier-Transformation des FIDs resultiert aus dem zeitlichen NMR-Signal ein Spektrum in der Frequenzdomäne. In der NMR-Spektroskopie (und Bildgebung) können aber während des FID auch noch eine andere Art von Signalen, sogenannte Echos, erzeugt werden. Dabei wird zwischen *Spin-Echos* (SE) und *stimulierten Echos* (STE) unterschieden. Resonanzsignale in Form von Echos werden durch die Schaltung von oft mehreren refokussierenden

HF-Pulsen (180° Pulse), die gewisse zeitliche Abstände zueinander haben, oder Einstrahlung von Gradientenumkehrschaltungen, erzeugt.

2.1.5 Die chemische Verschiebung - Chemical Shift

Hätten alle Protonen in Geweben oder Flüssigkeiten dieselbe Larmorfrequenz, so wäre in einem Protonenspektrum lediglich eine Resonanz messbar. Die Abstrahlungsfrequenz eines Atomkerns wird jedoch durch das lokale Magnetfeld \vec{B}_0 am Ort des Kerns i bestimmt. Elektronen verursachen eine Abschwächung oder Verstärkung des lokalen Magnetfeldes \vec{B}_i , da sie von den chemischen Bindungszuständen der benachbarten Atome beeinflusst werden, und so den Protonenkern unterschiedlich gegen das \vec{B}_0 -Feld abschirmen. Somit gilt für das lokale Magnetfeld \vec{B}_i

$$B_i = B_0 (1 - \sigma_i) \quad (2.8)$$

mit der Abschirmkonstante σ_i für den Kern i . Daraus folgt, dass die Resonanzfrequenz (Gl. (2.4)) für den Kern i auch modifiziert werden muss:

$$\omega_i = \gamma B_0 (1 - \sigma_i) \quad (2.9)$$

Die Gleichung (2.9) zeigt, dass die Resonanzfrequenz eines Kerns von dessen molekularer Umgebung und dem äußeren Magnetfeld abhängt. Diesem Phänomen liegt die *chemischen Verschiebung* δ (engl. Chemical Shift) zugrunde. Sie wird relativ zu einer Referenzfrequenz ω_{ref} (z.B. TMS, Tetramethylsilan) definiert

$$\delta_i = \frac{\omega_i - \omega_{ref}}{\omega_0} \quad (2.10)$$

und normalerweise in parts per million (ppm) angegeben.

2.1.6 Spin-Spin-Kopplung

Die Kernresonanzfrequenz eines Atomkernes kann in einem Spektrum in mehrere Linien, den sogenannten *Multiplets*, aufgeteilt werden, wenn weitere Atomkerne mit einem magnetischen Moment in der Umgebung des beobachteten Atomkerns liegen. Diese Multipletaufspaltung M wird durch die Kopplung zwischen den Spins, der *Spin-Spin-Kopplung*, verursacht und folgt der Regel

$$M = 2n \cdot I + 1 \quad (2.11)$$

Dabei steht n für die Anzahl der chemisch äquivalenten Nachbaratome mit dem Kernspin I , die mit dem zu untersuchenden Atomkern koppeln. Die Signalintensitäten zwischen den Multiplets verhalten sich gemäß der Binomialverteilung (*Pascalsches Dreieck*).

2.1.7 Suszeptibilität

Werden Moleküle in ein Magnetfeld gebracht, so haben ihre Elektronen das Bestreben, das Innere der Moleküle gegen das äußere Magnetfeld abzuschirmen. Dieser Effekt ist in der Elektrodynamik als *Lenzsche Regel* bekannt und besagt, dass in einer Leiterschleife durch eine Magnetfeldänderung ein Strom induziert wird. Dieser Strom erzeugt wiederum ein magnetisches Moment, das dem primären Feld entgegenwirkt. Dasselbe gilt für die makroskopischen Leiterschleifen der Elektronen. Die Elektronen in Atomen bewegen sich allerdings reibungsfrei, so dass ein einmal induzierter Elektronenstrom solange bestehen bleibt, bis das äußere Magnetfeld \vec{B}_0 wieder geändert wird. Die Summe der magnetischen Momente in einer Probe, die durch Elektronen hervorgerufen werden, bezeichnet man als *Elektronenmagnetisierung* \vec{M}_e . Ihre Größe ist für die meisten in biologischem Gewebe vorkommenden (nichtferromagnetischen) Substanzen proportional zum äußeren Magnetfeld B_0

$$\vec{M}_e = \chi \vec{B}_0 \quad (2.12)$$

mit der dimensionslosen Proportionalitätskonstanten χ (*magnetische Suszeptibilität*). Die magnetische Suszeptibilität ist eine Materialkonstante und gemäß der Lenz'schen Regel für diamagnetische Substanzen immer negativ.

2.1.8 Feld-Inhomogenität

Wie in Abschnitt 2.1.7 beschrieben, schirmen die Elektronen eines Moleküls das Innere des Moleküls gegen das statische Magnetfeld ab. Wird nun ein Objekt, z.B. ein Patient, in ein statisches Magnetfeld gebracht, führt das unweigerlich zu Feldveränderungen. In der Spektroskopie kann dieses Problem teilweise umgangen werden, indem das zu untersuchende Volumen möglichst klein und morphologisch homogen gehalten wird. Zusätzlich kann das Magnetfeld im zu untersuchenden Volumen durch sogenannte externe Shim-Spulen korrigiert werden [136]. Dabei können die Shim-Spulen ein schwaches lokales Zusatzfeld erzeugen, das den Feldveränderungen entgegenwirkt. Dieser Vorgang der Homogenisierung des Magnetfeldes wird als „Shimmen“ bezeichnet und ist ein wesentlicher vorbereitender Vorgang bei der Spektroskopie-Messung.

2.1.9 Ortsauflösung mittels Gradientenfelder

Sowohl in der MR-Tomographie als auch in der MR-Spektroskopie muss das akquirierte Signal mit einem definierten Volumenelement (Akronym: „volume element“, Voxel) in Verbindung gebracht werden können. Wird das statische Magnetfeld \vec{B}_0 durch ein zusätzliches Magnetfeld mit einer definierten Ortsabhängigkeit überlagert, so wird die Larmorfrequenz des Resonanzsignals zu einer Funktion des Ortes. In der Praxis wird die Ortsabhängigkeit fast ausschließlich durch Gradientenfelder erzeugt. Dabei handelt es sich um drei zusätzliche Magnetfelder entlang der x-, y- und z-Achse, deren Feldvektoren in Richtung der z-Achse zeigen und deren Feldstärken linear von den jeweiligen Ortskoordinaten abhängen. Werden die z-Komponenten der drei Gradientenfeldern mit B_x , B_y und B_z bezeichnet, so gilt

$$\begin{aligned} B_x &= G_x \cdot x \\ B_y &= G_y \cdot y \\ B_z &= G_z \cdot z \end{aligned} \tag{2.13}$$

wobei die Proportionalitätskonstanten G_x , G_y und G_z die Stärke und den Verlauf der magnetischen Gradientenfelder beschreiben. Diese von Lauterbur [82] entwickelte Technik ermöglichte die Bildgebung (Magnetic Resonance Imaging, MRI) mittels NMR.

2.1.10 Lokalisation von MR-Spektren

Sollen in der MR-Spektroskopie zur Lokalisation der Spektren dieselben Gradientenfelder wie in der MRI benutzt werden, treten erhebliche Schwierigkeiten auf. Bei eingeschalteten Gradientenfeldern während des Auslesens der MR-Signale sind chemische und räumliche Informationen nicht mehr auflösbar. Die MR-Spektroskopie erfordert also Gradientenfelder, die schnell und unabhängig voneinander ein- und ausgeschaltet werden können. Zusätzlich muss die MR-Spektroskopie mehrere Kriterien erfüllen, damit klinisch relevante Daten akquiriert werden können. Es sollte eine in allen drei Raumrichtungen bildüberwachte Platzierung des zu untersuchenden Volumens (VOI = Volume-of-Interest) möglich sein. Das VOI muss genügend klein gewählt werden können, um ein Signal aus einer möglichst homogenen Struktur zu erhalten. Die Signalbeiträge aus dem umliegenden Gewebe sollen möglichst gering sein. Das gemessene Signal muss ein genügend grosses Signal-zu-Rausch-Verhältnis (engl. Signal-to-Noise Ratio = SNR) aufweisen. Kriterien hierfür sind gut aufgelöste, schmale Peaks nach durchgeführter Fast Fourier Transformation (FFT). Die meisten Lokalisationstechniken, die diese Bedingungen erfüllen, bauen auf die Ortsauflösung mittels Gradientenüberlage-

rung über das statische B_0 -Feld auf. Eine Zusammenfassung aller verfügbaren Lokalisationstechniken geht über den Rahmen dieser Arbeit hinaus. Eine Übersicht verschafft der Artikel von Drost et al. [43].

2.1.11 Einzelvolumen-Spektroskopie

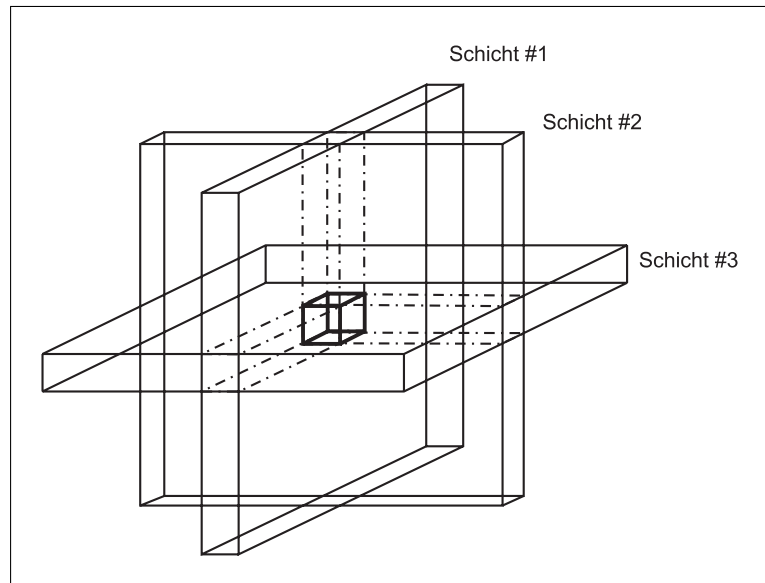


Abbildung 2.2: Das Einzelvolumen (kleiner Quader) ist durch drei orthogonale Anregungsschichten definiert (modifiziert nach [24]).

In der Einzelvolumen-Spektroskopie wird ein Spektrum aus einem kleinen Volumen, das durch den Schnittpunkt von drei orthogonalen Schichten definiert ist, akquiriert (Abbildung 2.2). Für die klinische in vivo Untersuchung haben sich vor allem zwei Untersuchungsmethoden in der Einzelvolumen-Spektroskopie durchgesetzt: die STEAM-Methode (Stimulated Echo Acquisition Mode) [51] und die PRESS-Methode (Point Resolved Spectroscopy) [12, 13]. Sowohl STEAM als auch PRESS beinhalten eine Serie von drei schichtselektiven HF-Pulsen. Im Folgenden sollen die beiden Methoden kurz beschrieben werden.

STEAM Die STEAM-Sequenz besteht aus drei 90° -schichtselektiven HF-Pulsen. Die Zeit zwischen dem ersten und zweiten Puls, sowie zwischen dem dritten Puls und dem stimuliertem Echo (STE) ist durch die halbe Echozeit $TE/2$ definiert. Die Zeit zwischen dem zweiten und dritten Puls ist durch die Mischzeit TM festgelegt. Jeder HF-Puls wird zusammen mit einem schichtselektiven Gradientenfeld appliziert. Abbildung 2.3 zeigt die schematische Darstellung der STEAM-Sequenz. Das resultierende Signal stammt

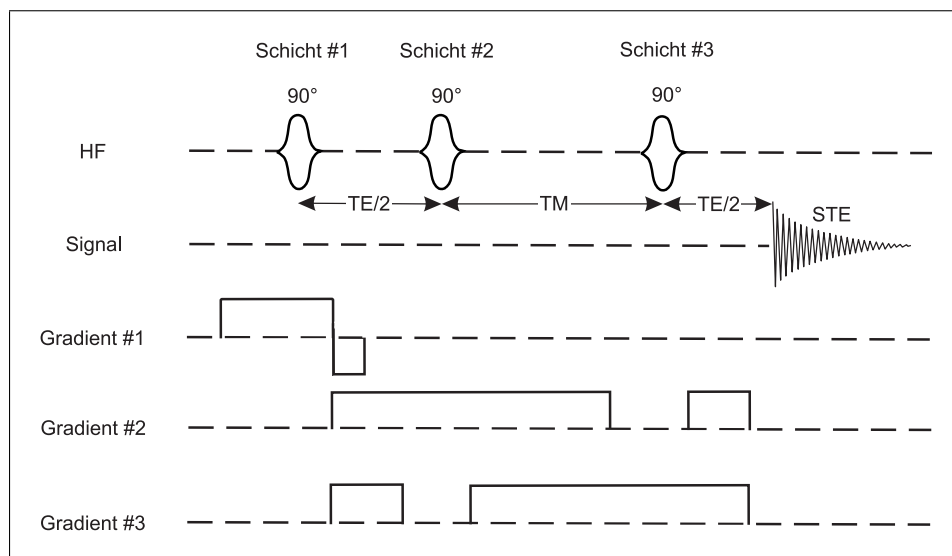


Abbildung 2.3: Zeitdiagramm einer STEAM-Lokalisierungssequenz mit drei 90° -Pulsen. Zur Lokalisation wird jeder Puls (HF) zusammen mit einem schichtselektiven Gradientenfeld angewendet. Das stimulierte Echo (STE) wird aufgezeichnet und weiterverarbeitet (modifiziert nach [24]).

nur von denjenigen Protonen, die durch alle drei HF-Pulse angeregt wurden.

PRESS Abbildung 2.4 zeigt den zeitlichen Verlauf einer PRESS-Sequenz. Der erste schichtselektive 90° -Puls wird von zwei 180° schichtselektiven Refokussierungspulsen gefolgt. Jeder der drei HF-Pulse wird in Gegenwart eines schichtselektiven Gradientenfeldes angewendet. Nach dem 90° - und dem ersten 180° -Puls ist das erste Spinecho messbar. Dieses Signal stammt aus dem Schnittvolumen der ersten beiden schichtselektiven Pulse und wird nicht aufgezeichnet. Erst das zweite Spinecho wird aufgezeichnet und stammt aus dem Volumen, das alle schichtselektiven Pulse „erfahren“ hat.

Da perfekte 180° Pulse praktisch schwer zu erreichen sind, ist die Ortsdefinition durch die PRESS-Sequenz ungenauer als durch die STEAM-Sequenz. Die PRESS-Methode bietet theoretisch eine bessere Signalausbeute gegenüber der STEAM (Faktor 2 bei gleicher TE), wobei in der Praxis jedoch auch das größere, ungenauer definierte Untersuchungsvolumen bei der PRESS-Methode auch zu einem höheren Signal führt. Bei generellen Hirnstoffwechselmessungen, wie in der vorliegenden Arbeit ist diese Einschränkung der Methode jedoch nicht relevant.

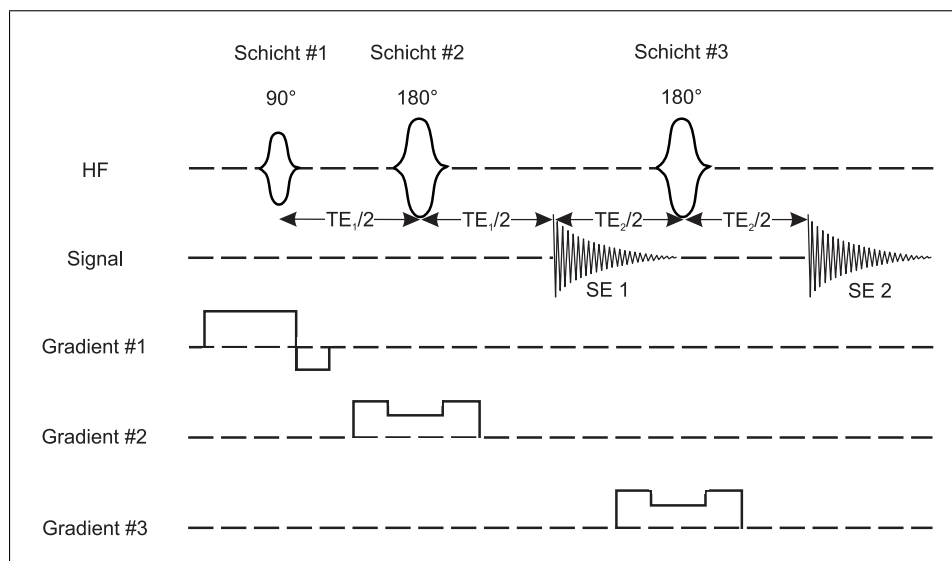


Abbildung 2.4: Zeitdiagramm einer PRESS-Lokalisierungssequenz mit einem schichtselektiven 90° -Puls gefolgt von zwei schichtselektiven 180° -Pulsen. Durch die drei Pulse (HF) werden zwei Spin-Echos (SE) erzeugt, wobei nur das zweite Echo aufgezeichnet wird (modifiziert nach [24]).

2.2 Quantifizierung spektroskopischer Daten

2.2.1 Hirnmetaboliten in der *in vivo* ^1H -MR-Spektroskopie

Die Resonanzen der Stoffwechselprodukte N-Azetylaspartat (NAA), *myo*-Inosit (mI), Kreatin (Cr) und Phosphorylcholin (PCh) ergeben in einem klinischen *in vivo* ^1H -MR-Spektrum nach der Wasserunterdrückung die stärksten Signale. Abbildung 2.5 zeigt zwei *in vivo* Spektren aus der weißen und grauen Hirnsubstanz einer gesunden Untersuchungsperson mit den zu beobachtenden Metaboliten. Tabelle 2.1 gibt die wichtigsten Kenngrößen, d.h. signalgebende Molekülgruppen, chemische Verschiebung und Multiplizität der Metaboliten wieder. Diese Metaboliten haben verschieden wichtige metabolische Funktionen, z.B. in der Membransynthese, im Energiemetabolismus oder in der Glykolyse. Im Folgenden wird auf die Metaboliten, die in dieser Arbeit eine wesentliche Rolle spielen, eingegangen.

NAA + NAAG Die am stärksten ausgeprägte Resonanz eines ^1H -NMR-Spektrums von gesundem Hirngewebe kommt von der Methyl-Gruppe des N-Azetylaspartat (NAA) bei 2.01 ppm. NAA und N-Azetylaspartylglutamat (NAAG) gehören zu den am höchsten konzentrierten Metaboliten im Hirn. NAA kommt ausschließlich im zentralen und peripheren Nervensystem vor und ist nur in den Neuronen und Dendriten zu finden [43]. Im zeitlichen Verlauf der Entwicklung des Hirns unterliegt NAA starken Kon-

Tabelle 2.1: Chemische Verschiebung δ der wichtigsten Metabolite, die im Hirn *in vivo* beobachtet werden können [57]. Die Multiplizitäten werden wie folgt abgekürzt: s: Singulett; d: Dublett; dd: doppeltes Dublett; t: Triplett; q: Quartett; qu: Quintett; m: Multiplett

Metabolit	chemische Gruppe	δ in [ppm]	Multiplizität
Cholin	$\text{N}(\text{CH}_3)_3$	3.19	s
	$^1\text{CH}_2$	4.05	m
	$^2\text{CH}_2$	3.50	m
Kreatin	$\text{N}(\text{CH}_3)$	3.03	s
	$^2\text{CH}_2$	3.91	s
GABA	$^2\text{CH}_2$	3.01	m
	$^2\text{CH}_2$	1.89	qu
	$^4\text{CH}_2$	2.28	t
Glutamat	^2CH	3.74	dd
	$^3\text{CH}_2$	2.04	m
	$^3\text{CH}_2$	2.12	m
	$^4\text{CH}_2$	2.34	m
	$^4\text{CH}_2$	2.35	m
Glutamin	^2CH	3.75	t
	$^3\text{CH}_2$	2.13	m
	$^3\text{CH}_2$	2.11	m
	$^4\text{CH}_2$	2.43	m
	$^4\text{CH}_2$	2.45	m
<i>myo</i> -Inosit	^1CH	3.52	dd
	^2CH	4.05	t
	^3CH	3.52	dd
	^4CH	3.61	t
	^5CH	3.27	t
	^6CH	3.61	t
<i>scyllo</i> -Inosit	^{1-6}CH	3.34	s
Laktat	^2CH	4.10	q
	$^3\text{CH}_3$	1.31	d
N-Azetylaspartat	$^2\text{CH}_2$	2.01	s
	$^3\text{CH}_2$	2.67	dd
	$^3\text{CH}_2$	2.47	dd
H_2O (37°C)		4.70	s

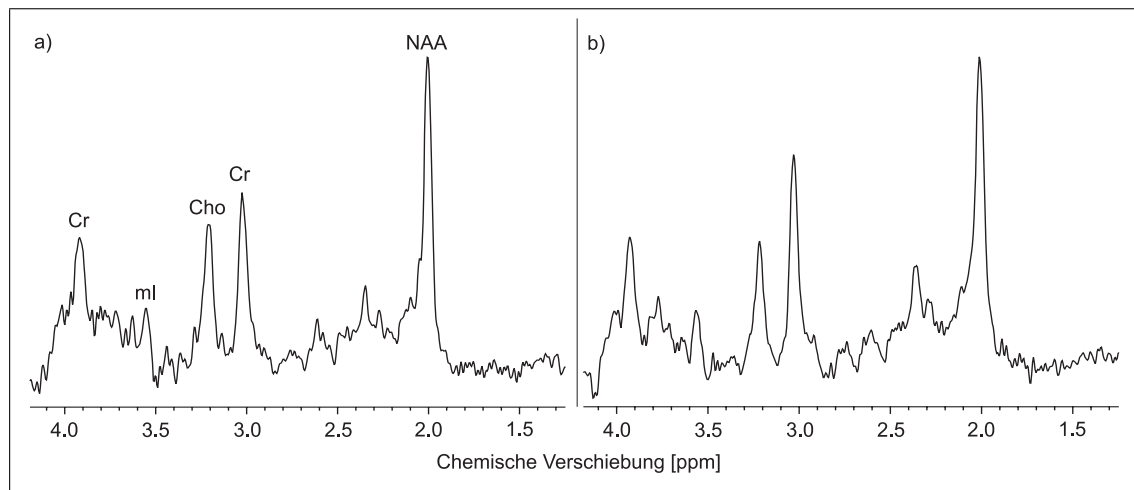


Abbildung 2.5: Zwei Protonen MR-Spektren akquiriert aus der **a)** weißen und **b)** grauen Hirnsubstanz. Die erkennbaren Metabolite sind N-Azetilaspartat (NAA), *myo*-Inosit (mI), Kreatin (Cr) und cholinhaltige Verbindungen (Cho) (PRESS: TR/TE: 6000/30 ms, 64 Akquisitionen, 8 ml VOI).

zentrales Nervengewebe [116]. So steigt die Konzentration während der Myelinisierung in den ersten Lebensmonaten eines Säuglings exponentiell an und erreicht mit ca. 10 Jahren das Niveau eines Erwachsenen [7]. NAA wirkt auch als Acetyl-Spender und als Osmolyt [128], während NAAG mit der Neurotransmission verknüpft ist [103]. Unter normalen Umständen bleibt die NAA-Konzentration im Hirnparenchym konstant, was auf einen Homöostasemechanismus für NAA schließen lässt. Aus diesem Grund wird NAA als Marker für die Neuronen benutzt. Eine Verminderung der NAA-Konzentration gilt als ein Anzeichen für Krankheiten, die mit einem neuronalen Verlust einhergehen wie z.B. Hirntumoren, ischämischer Infarkt und Demenz [128]. NAA und NAAG werden in der ^1H -NMR meist nicht getrennt betrachtet, da eine Unterscheidung der beiden Metaboliten nur schwer möglich ist.

Kreatin Die Kreatin-Resonanzen entsprechen der Summe von Kreatin (Cr) und Phosphokreatin (PCr). In Organen wie Muskel und Gehirn, die auf eine schnelle Zufuhr von Energie angewiesen sind, spielt PCr eine zentrale Rolle bei der Speicherung und Zufuhr von hochenergetischen Phosphaten. Cr wird durch das Enzym Kreatinkinase in PCr umgewandelt. Dabei wird eine Phosphatgruppe von Adenosin 5'-triphosphat (ATP) auf Cr übertragen.



Diese Reaktion ist reversibel und dient als zeitlicher Puffer für die ATP-Homöostase, wenn der Verbrauch von ATP die Synthese kurzzeitig übersteigt [67]. Cr wird über die

Nahrung aufgenommen und *de novo* in Leber, Niere, Pankreas und zu einem sehr kleinen Anteil auch im Gehirn synthetisiert. Dabei dienen Arginin, Glyzin und S-Adenosyl-L-Methionin als Substrat, Arginin-Glyzinamidinotranferase und Guanidinoazetat-Methyltransferase als Enzyme [40]. Über das Blut wird Cr zum Gehirn und Muskel transportiert und über spezifische Kreatin-Transporter in die Zellen des Gewebes aufgenommen.

myo-Inosit Inosit ist ein 6-wertiger zyklischer Alkohol und kommt im Menschen in hohen Konzentrationen im Zentralnervensystem (ZNS), Niere, Hoden, Schilddrüsen und den Augenlinsen vor [23]. Inosit wird durch die Nahrung aufgenommen und hauptsächlich in den Nieren, aber auch in den Hoden und im Gehirn synthetisiert [65]. Im Hirnparenchym des Menschen liegt Inosit in zwei Konfigurationen vor: dem prädominanten *myo*-Inosit (mI) und dem *scyllo*-Inosit (*scyllo*-Ins). Im Hirn des Menschen wurde Inosit nur in Gliazellen gefunden [16]. Daher gilt es als Marker für Gliazellen. Myo-Inosit ist eine Vorstufe für die Inositlipidsynthese (Inositide) und ein Bestandteil von Membranlipiden [127]. Während der Hirnreifung in den ersten Lebenswochen sinkt der beim Neugeborenen sehr hohe Gewebespiegel des Inosits stark ab und erreicht die Erwachsenenwerte nach etwa 6-12 Monaten. Eine der grundlegenden bekannten Funktionen von mI ist die Eigenschaft als organischer Osmolyt zu wirken (siehe Abschnitt 2.3.3).

Glu + Gln Glutamin (Gln) und Glutamat (Glu) sind Aminosäuren. Glutamat ist der wichtigste erregende Neurotransmitter im ZNS und kommt in allen Zellen des Hirns vor. Glutamin dient u.a. als NH_2 -Donor bei Transaminierungen (z.B. Synthese von Purinen und Glucosamin). In der *in vivo* Spektroskopie bei 1.5 Tesla werden Glu und Gln in der ^1H -NMR nicht getrennt voneinander betrachtet, weil die Überlappung der Resonanzen eine Auftrennung stark erschwert.

Cholin (GPC + PCh) Im Hirn und im Muskel tragen hauptsächlich Phosphorylcholin (PCh), Glycerophosphorylcholin (GPC) und zu einem kleinen Teil auch freies Cholin zur Resonanz bei 3.2 ppm bei [97]. PCh ist an der Synthese von Membranlipiden beteiligt, während GPC ein Produkt des Membranabbaus ist [17] und freies Cholin eine wichtige Rolle in der Synthese des Neurotransmitters Azetylcholin und im Membranaufbau spielt.

Eine Erhöhung der Cholin-Resonanz bzw. der die Cholingruppe enthaltenden Metabolite (Cho) steht im Zusammenhang mit dem Anstieg des Membranabbaus oder Membranumsatzes. Bei Krankheiten, die eine Demyelinisierung hervorrufen, sowie bei

Tumoren, kann ein Anstieg der Cholin-Resonanz bzw. der Cho-Metabolite gemessen werden.

2.2.2 Quantifizierung

Vor der qualitativen Auswertung eines Spektrums erfolgt eine spektrale Zuordnung. Fast alle Metaboliten besitzen mehr als eine charakteristischen Resonanz. Um die Resonanzen eines Spektrums entsprechenden Metaboliten zuordnen zu können, werden Parameter, die einer festen physikalischen Gesetzmäßigkeit folgen, benutzt. So sind Amplitudenverhältnisse und relative chemische Verschiebungen der Resonanzen in den charakteristischen Multiplets für jeden Metabolit einzigartig und können für eine eindeutige spektrale Zuordnung herangezogen werden. Zur Quantifizierung von Spektren mussten zuverlässige und reproduzierbare Methoden entwickelt werden. Dabei können im Allgemeinen drei unterschiedliche Methoden unterschieden werden [4, 37, 46, 77, 95]:

a) Interne Referenz: Das Signal aus der *in vivo* Messung wird mit dem Signal einer internen Referenz verglichen. Dabei kann es sich bei der internen Referenz um einen Metaboliten, der im zu untersuchenden Gewebe in stabiler Konzentration vorkommt oder um das nicht unterdrückte lokalisierte Protonensignal des Gewebewassers handeln. Die Schwierigkeit der internen Referenzmethode liegt darin, dass Metabolitkonzentrationen regional abhängig sind und bei der Untersuchung von pathologischem Gewebe die Konzentrationen von Metaboliten und Gewebewasser sich ändern können.

b) Externe Referenz: Das Spektrum aus der *in vivo* Messung wird mit einem Spektrum einer Modellösung mit bekannten Metabolitenkonzentrationen verglichen. Die Modellösung wird zusammen mit dem Probanden in der Spule platziert und in der gleichen Messung spektroskopiert. Durch die gleichzeitige Positionierung von Proband und Modellösung treten allerdings Probleme mit der Feldhomogenität auf, welche die Qualität der Spektren negativ beeinflussen können.

c) Absolute Referenz: Das Spektrum der *in vivo* Messung wird mit dem Spektrum einer separaten Messung verglichen. Die separate Messung erfolgt mit einer Modellösung mit bekannten Metabolitkonzentrationen unter der Voraussetzung gleicher HF-Eigenschaften für beide Messungen.

Die Ergebnisse der Auswertung eines Spektrums können sowohl in absoluten Konzentrationen als auch in Verhältnissen angegeben werden. Während absolute Konzentrationen zunächst nur als institutsinterne Einheit [Iu] benutzt werden, können

Verhältnisse direkt zwischen verschiedenen Forschungsgruppen verglichen werden. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, ob es sich um Integralverhältnisse oder Konzentrationsverhältnisse handelt.

2.2.3 Absolut- und Relativbestimmung

Die Bestimmung der Metabolitkonzentrationen mit Hilfe einer absoluten Referenz hat sich in der Praxis zu einer etablierten Methode entwickelt. Da die Fläche unter dem Resonanzsignal eines Metaboliten seiner Konzentration entspricht, muss das zu quantifizierende Spektrum nur mit dem Modellspektrum verglichen und durch einen entsprechenden Skalierungsfaktor korrigiert werden. Um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten, müssen alle Parameter, die einen möglichen Einfluss auf die Auswertung haben können, sorgfältig geprüft werden. In den folgenden Abschnitten werden die wichtigsten Faktoren, die eine Quantifizierung der Metaboliten beeinflussen können, kurz beschrieben.

2.2.3.1 Partielle Sättigung (T_1 -Relaxation)

Wird die Repetitionszeit TR einer Pulssequenz kürzer als das 4-5 fache der Relaxationszeit T_1 gewählt, kann sich die Längsrelaxation vor dem nächsten Puls nicht vollständig relaxieren. Dies führt zu einer Reduktion des Gleichgewichts der Längsmagnetisierung. Dementsprechend reduzieren sich die Signalintensitäten der Metaboliten der *in vivo* Messung gegenüber denjenigen der *in vitro* Messung. Unterschiedliche T_1 -Relaxationszeiten zwischen *in vivo* Messung und *in vitro* Messung müssen deshalb durch einen entsprechenden Korrekturfaktor ausgeglichen werden.

2.2.3.2 Transversale Relaxation (T_2 -Relaxation)

Jede Messung, bei der eine Spinecho-Sequenz verwendet wird, induziert einen Signalverlust auf Grund der T_2 -Relaxationseffekte. Kurze Echozeiten ($TE < 35\text{ms}$) können diesen Effekt reduzieren, so dass nur bei Metaboliten mit sehr kurzen T_2 -Relaxationszeiten ein Signalverlust entsteht.

Für Metabolitresonanzen im Hirn liegt die Sättigung durch Spin-Spin-Relaxation *in vivo* für $T_2 = 200 - 400\text{ ms}$ in der Größenordnung von 5 - 10%, während *in vitro* die Sättigung bei ca. 3% liegt, da die Metabolitresonanzen *in vitro* 2-4fach längere Relaxationszeiten T_2 besitzen [94]. Dadurch erhöhen sich Metabolitkonzentrationen, die mit der externen bzw. absoluten Referenzmethode berechnet wurden, nach einer entsprechenden Korrektur.

2.2.3.3 Voxelzusammensetzung (Kompartimentierung)

Es ist praktisch nicht möglich, ein VOI zu 100 Prozent in nur einem Kompartiment zu platzieren. Da nicht jedes Kompartiment gleich stark zum gemessenen Signal beiträgt, muss deshalb die Zusammensetzung (zerebrospinale Flüssigkeit, signalgebendes Gewebewasser und NMR-unsichtbarer Rest) des VOI für eine quantitative Auswertung eines *in vivo* Spektrums bekannt sein.

Eines der einfachsten Kompartimentierungsmodelle wurde von Ernst et al. [46] entwickelt und unterscheidet zwischen zerebrospinaler Flüssigkeit, Gewebewasser und dem NMR-unsichtbaren Rest:

Zerebrospinale Flüssigkeit: Die zerebrospinale Flüssigkeit (CSF, lat. Liquor cerebrospinalis) zirkuliert in den Hirnventrikeln und dem Rückenmark. Sie dient dem ZNS u.a. auch als Puffer zum Schutz vor mechanischer Verformung.

Gewebewasser: Jedes Gewebe kann in einen intrazellulären und extrazellulären Raum aufgeteilt werden. Dieser Teilung entsprechend kann zwischen intrazellulärer Flüssigkeit (ICF) und extrazellulärer Flüssigkeit (ECF) unterschieden werden. In ihrer Summe ergeben sie das gesamte Gewebewasser und stehen im Verhältnis 85:15% zueinander. Die ICF kann desweiteren in zytoplasmatische und mitochondriale Flüssigkeit im Verhältnis 75:25 aufgeteilt werden.

NMR-unsichtbarer Rest: NMR-unsichtbare Kompartimente tragen nicht zum NMR-Signal bei. Es handelt sich dabei vor allem um strukturerhaltende Verbindungen des Hirns, die aufgrund ihrer geringen Mobilität sehr kurze T_2 -Relaxationszeiten aufweisen ($<1\text{ms}$) und demzufolge mit den verwendeten Meßparametern der *in vivo*-MRS nicht zu messen sind.

Alter, Pathologie und individuell regionale Unterschiede können die Zusammensetzung eines Voxels, insbesondere den Anteil der CSF stark beeinflussen [28, 46, 113].

Zur Bestimmung der Voxelzusammensetzung existieren zwei allgemein anerkannte Methoden. Über die Bildgebung lassen sich graue Substanz (GM), weiße Substanz (WM) und CSF anhand ihres Kontrastes unterscheiden und segmentieren. Auf spektroskopische Daten greift die Methode von Ernst et al. [46] zurück. Sie unterscheidet zwischen CSF und Hirngewebe (WM+GM) anhand ihrer unterschiedlichen T_2 -Relaxationszeiten. Die T_2 -Zeiten des Gewebewassers liegen zwischen 70 und 100ms und sind somit ca. 10 Mal kürzer als die T_2 Zeit der CSF.

Gleichung 2.14 zeigt das theoretisch akquirierbare Signal eines STEAM-Experiments aus dem Volumen V.

$$\begin{aligned}
 S(TE, TM, TR) = & S_0(CSF) \cdot \exp\left(-\frac{TE}{T_2(CSF)}\right) \\
 & \times \exp\left(-\frac{TM}{T_1(CSF)}\right) \cdot \left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1(CSF)}\right)\right] \\
 & + S_0(HW) \cdot \exp\left(-\frac{TE}{T_2(HW)}\right) \cdot \exp\left(-\frac{TM}{T_1(HW)}\right) \\
 & \times \left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1(HW)}\right)\right]
 \end{aligned} \tag{2.14}$$

mit TE (Echozeit), TM (Mischzeit) und TR (Repetitionszeit). CSF und das Wasser des Hirngewebes (HW) tragen zu diesem aus dem Volumen V gemessene Signal bei. Da für ein PRESS-Experiment die Mischzeit TM entfällt und bei der Messung des Signals S die Repetitionszeit üblicherweise konstant gehalten wird, kann die Gleichung 2.14 folgendermaßen vereinfacht werden:

$$S(TE) = S_0(CSF) \cdot \exp\left(-\frac{TE}{T_2(CSF)}\right) + S_0(HW) \cdot \exp\left(-\frac{TE}{T_2(HW)}\right) \tag{2.15}$$

Durch die Anpassung von experimentell gewonnenen Signalstärken S bei verschiedenen Echozeiten an die Gleichung 2.15 kann anhand der Methode der kleinsten Quadrate (least squares fitting procedure) das Signal S in die zwei Komponenten $S_0(CSF)$ und $S_0(HW)$ zerlegt werden.

Mit Hilfe dieser zwei Komponenten kann nun der sogenannte Atrophieindex durch die Formel von Ernst et al. [46] berechnet werden:

$$\alpha = \frac{S_{CSF}}{S_{CSF} + S_{HW}} \tag{2.16}$$

Der Atrophieindex normiert die Summe der Signalbeiträge des Gewebewassers und der CSF auf den Wert 1 und gibt das prozentuale Verhältnis der beiden Signalbeiträge zum gesamten Signal wieder. Mit dem Atrophieindex können nun je nach CSF-Gehalt des VOI die absoluten Konzentrationen der Metabolite korrigiert werden.

2.3 Physiologische Grundlagen

Unter körperlicher Belastung kommt es zu einer Aktivierung des Stoffwechsels und zu einer Steigerung der Energieproduktion durch den erhöhten Energiebedarf der Skelettmuskulatur. Da in den Muskeln nur eine geringe Menge von hochenergetischen Verbindungen, die eine Muskelkontraktion und -relaxation ermöglichen, gespeichert ist, muss der Körper in der Lage sein, für längerandauernde Belastungen hochenergetische Verbindungen *de novo* zu resynthetisieren. Dazu werden Glucose und freie Fettsäuren in der Gegenwart von Sauerstoff abgebaut. Durch die Ineffektivität des Energietransfers innerhalb dieses metabolischen Abbaus entsteht als eines der Abfallprodukte Wärme. Die Wärmeproduktion hängt dabei von der metabolischen Abbaurate sowie von der oxidierten Verbindung ab. So werden z.B. beim ausschließlichen Abbau von freien Fettsäuren 19.6 kJ pro Liter verbrauchtem Sauerstoff in Form von Wärmeenergie frei und beim Abbau von Zucker 21.1 kJ pro Liter Sauerstoff [102]. Somit variiert die bei physischer Arbeit freigesetzte Wärmemenge je nach Art, Dauer und Intensität der Belastung. Der Körper muss diese anfallende Wärmeenergie abführen, da sonst aufgrund der gesundheitsschädlichen Wirkung einer Hyperthermie nur kurzzeitige Belastungen möglich wären. Um dies zu vermeiden, besitzt der Mensch ein Körpertemperaturregulationssystem, das sehr effektiv die Körpertemperatur regulieren kann. An dieser Stelle soll nur auf die Temperaturregulation bei körperlicher Aktivität eingegangen werden.

2.3.1 Körpertemperatur

Wie in Abschnitt 2.3 beschrieben, produziert der Körper des Menschen bei körperlicher Aktivität Wärme, die abgeführt werden muss. Dies geschieht durch Wärmeübertragung und kann auf folgende Weise geschehen:

- **Konvektion:** Wärmeabgabe an ein bewegtes Fluid. Dies kann z.B. Wasser oder Luft sein.
- **Wärmeleitung:** Weiterleitung von Wärme zwischen zwei Körpern durch direkten Kontakt. Dabei wird kinetische Energie zwischen benachbarten Atomen oder Molekülen übertragen. Dafür muss ein Temperaturunterschied zwischen den Teilen bestehen, um eine Wärmeleitung zu ermöglichen.
- **Wärmestrahlung:** Wärmeübertragung durch Strahlung erfolgt mittels elektromagnetischer Wellen (hauptsächlich im Infrarotbereich).

- **Verdunstung:** Damit eine Flüssigkeit verdunsten kann, benötigt sie Verdunstungswärme. Diese Energie wird der Umgebung in Form von Wärme entzogen, so dass sich diese abkühlt (Verdunstungskälte). Dies erfolgt beim Menschen zum einen durch die Verdunstung von Schweiß auf der Haut und zum anderen Teil durch die Verdunstung von Flüssigkeit in den Atemwegen.

In Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur variiert das Verhältnis von Wärmeabgabe durch Verdunstung zu Wärmeabgabe durch Konvektion, Wärmeleitung und Wärmestrahlung. Je wärmer die Umgebung, desto mehr Wärmeenergie muss über Verdunstung von Schweiß abgegeben werden [130]. Aus diesem Grund kann in warmer Umgebung ein erheblicher Teil des Körperwassers über die exokrinen Schweißdrüsen verloren gehen [130]. Wird dieser Flüssigkeitsverlust nicht durch entsprechende Flüssigkeitsaufnahme kompensiert, kommt es zur *Dehydration*.

2.3.2 Dehydration

Unter Dehydration versteht man den Prozess des Flüssigkeitsverlustes. Folgende Begriffsgebungen werden unterschieden: *Euhydration* beschreibt den Zustand bei normalem Körperwassergehalt, *Hypohydration* den Zustand bei erniedrigtem Körperwassergehalt und *Hyperhydration* den Zustand bei erhöhtem Körperwassergehalt. Der Prozess der Wasseraufnahme vom hypohydrierten in den euhydrierten Zustand wird *Rehydration* genannt.

Körperliche Bewegung bewirkt immer eine Flüssigkeitsverschiebung innerhalb der verschiedenen Kompartimente [74, 110, 114, 132]. Convertino et al. [31] haben gezeigt, dass bereits wenige Minuten nach dem Beginn einer Belastung eine Verringerung des Plasmavolumens in Abhängigkeit von der Belastungsintensität messbar ist. Das wird dadurch begründet, dass Flüssigkeit aus dem Vaskulärraum in die aktive Muskulatur diffundiert. Diese Flüssigkeitsverschiebung kann durch zwei Mechanismen erklärt werden:

1. Aktive Muskulatur produziert osmotisch aktive Stoffe - wie z.B. Laktat - und erhöht so den osmotischen/ onkotischen (kolloidosmotischen) Druck zwischen den Flüssigkeitskompartimenten.
2. Durch den erhöhten arteriellen Druck und die Muskelkontraktionen steigt der mechanische/ hydrostatische Druckgradient zwischen dem Vaskulärraum und dem umgebenden Gewebe.

Bei länger andauernden Belastungen verliert der Körper zusätzlich Flüssigkeit über die Produktion von Schweiß. Die Schweißrate, d.h. die Menge an Schweiß, die ein Sportler pro Stunde verliert, wird von verschiedenen Faktoren wie Umgebungsbedingungen, Kleidung und Bewegungsintensität [131] beeinflusst. Für Ausdauerathleten sind Schweißraten von 1 l/h normal [124, 130]. In warmer Umgebung und bei starker körperlicher Belastung sind Werte von über 3 l/h möglich [124]. Um Leistungseinbußen und gesundheitliche Beeinträchtigungen infolge eines Flüssigkeitsverlustes zu verhindern, muss der Sportler entsprechende Mengen an Flüssigkeit wieder aufnehmen. In warmer Umgebung ist es schwer, die Balance zwischen Flüssigkeitsverlust und Flüssigkeitsaufnahme aufrecht zu erhalten. Flüssigkeitsaufnahme *ad libitum* resultiert in einem ungenügenden Flüssigkeitersatz [59, 88, 133]. Der Athlet dehydriert.

Der Wassergehalt des Menschen entspricht etwa 60% seines Körpergewichts. Je nach Fettanteil kann dieser Wert von 45-70% schwanken (Fettgewebe besteht aus ca. 10%, Muskelgewebe aus ca. 75% Wasser) [130]. Man unterscheidet beim gesamten Körperwasser zwischen extrazellulärer und intrazellulärer Flüssigkeit, wobei die extrazelluläre Flüssigkeit nochmals in interstitielle Flüssigkeit und Plasmaflüssigkeit aufgeteilt wird. Die Flüssigkeitsräume sind durch Zellmembranen, die für Wasser durchlässig sind, getrennt. Somit besteht zwischen den verschiedenen Flüssigkeitsräumen ein freier Flüssigkeitsaustausch [133]. Dehydratation reduziert den gesamten Körperwassergehalt und als Konsequenz des freien Flüssigkeitsaustausch, den Wassergehalt jedes Flüssigkeitsraumes [34, 44, 107].

Nose et al. [109] wiesen eine signifikante Verringerung sowohl des intra- als auch extrazellulären Flüssigkeitsraumes bei 10 Probanden nach, die um 2.3% ihres Körpergewichts dehydriert wurden. In einer weiteren Studie [107] konnte gezeigt werden, dass der Wasserverlust sowohl auf die verschiedenen Flüssigkeitsräume als auch auf die verschiedenen Organe unterschiedliche Auswirkungen hat. Ratten wurden thermisch um 10% ihres Körpergewichtes dehydriert und es konnte nachgewiesen werden, dass der Wassergehalt des Extrazellularraums um 59% und der des Intrazellularraums um 41% reduziert wurde. Dabei wurde der Wassergehalt der Muskeln um 40%, der Haut um 30%, der inneren Organe um 14% und der Knochen um 14% reduziert. Es konnte jedoch kein signifikanter Wasserverlust des Gehirns und der Leber nachgewiesen werden.

Schweiß ist im Vergleich zum Plasma hypoton, d.h. erfolgt Dehydratation durch Flüssigkeitsverlust über Schweiß, wird das Plasma hyperton [130]. Die Osmolalität steigt an, weil der hypotone Wasserverlust über den Schweiß die Konzentrationen der osmotisch aktiven Natrium- und Chlorid-Ionen im Plasma ansteigen lässt [150]. Desgleichen steigt die onkotische Druckdifferenz zwischen Gewebe und Intravasalraum

aufgrund der relativ höheren intravasalen Eiweißkonzentrationen. Aufgrund des osmotischen und onkotischen Druckes, der aus dem hyperosmolaren Plasma resultiert, wird Flüssigkeit aus dem Intrazellular- in den Extrazellularraum zur Konstanthaltung des Blutvolumens nachgezogen [131].

2.3.2.1 Folgen der Dehydratation

Bei Hypohydratation versucht der Körper das Plasmavolumen und somit auch das Blutvolumen konstant zu halten, um Beeinträchtigungen des Herz-Kreislaufsystems zu verhindern. Trotzdem erfolgt, je nach Ausprägung der Hypohydratation, eine Reduktion des Blutvolumens. Eine Abnahme des zentralen Blutvolumens (entweder durch Hypovolämie oder durch Dilatation der peripheren Gefäße) hat immer zur Folge, dass der kardiale Füllungsdruck und das Herzschlagvolumen abnimmt [100, 102]. Um das Herzminutenvolumen trotz dieser Veränderungen konstant zu halten, steigert der Körper die Herzfrequenz. Bei Überschreitung eines bestimmten Grades der Hypohydratation (2% in warmer Umgebung, 3% in temperaturneutraler Umgebung [131]) kann der Körper das Herzminutenvolumen trotz erhöhter Herzfrequenz nicht mehr aufrecht erhalten. Die maximale aerobe Leistungsfähigkeit (VO_2max) wird als Folge davon verringert.

Hypohydratation beeinflusst des Weiteren die Leistungsfähigkeit bei lang andauernder aerober Arbeit über eine Beeinträchtigung der Thermoregulation. Bereits ein Körperwasserverlust von 1% führt zur Erhöhung der Körperkerntemperatur [5]. Der Temperaturanstieg reicht von 0.1°C bis 0.25°C pro verlorenem Prozent Körpergewicht [131]. Je stärker ausgeprägt die Hypohydratation ist, desto mehr steigt die Osmolalität des Blutplasmas bzw. umso mehr wird das Plasmavolumen reduziert. Der Abfall des Plasmavolumens hat zur Folge, dass die Hautdurchblutung gesenkt wird. Dies bedingt, dass weniger Wärme über die Körperoberfläche durch Konvektion und Wärmestrahlung abgegeben wird. Mit der Reduktion der Hautdurchblutung wird auch die Produktion von Schweiß vermindert. Dies hat eine weitere Einschränkung in der Körpertemperaturregulation zur Folge. Wird die körperliche Belastung nicht abgebrochen, folgt eine konsekutive Hyperthermie [100, 102, 134], die ein hohes gesundheitliches Risiko für den Sportler darstellen kann.

Als Folge einer konsekutiven Hyperthermie können Hitzekollaps (Hitzesynkope), Hitzeerschöpfung und Hitzschlag (Belastungshitzschlag) eintreten. Ein Hitzekollaps resultiert aus einer Blutdrucksenkung aufgrund des verminderten Blutvolumens. Schwindelerscheinungen und Kollaps sind mögliche Folgen. Hitzeerschöpfung in Folge von Flüssigkeitsverlust ist eine der häufigsten Formen des Hitzeschadens. Der Mechanismus ist ähnlich wie beim Hitzekollaps. Durch das dezimierte Blutvolumen kommt es zu

einer verminderten Hirndurchblutung, die allerdings nicht zur Bewusstlosigkeit führt. Erbrechen und Erschöpfung sind mögliche Folgen. Setzt der Betroffene die körperliche Aktivität fort, kommt es zur anhydrotischen Erschöpfung. Die Schweißbildung des Körpers wird eingestellt und die Kerntemperatur kann relativ rasch steigen. Es entwickelt sich ein Hitzschlag. In diesem Fall kann vom Belastungshitzschlag gesprochen werden. Der Hitzschlag ist die gefährlichste Form des Hitzeschadens. Er führt zu psychomentalen Auffälligkeiten wie Desorientierung und endet schließlich in Bewusstlosigkeit. Wird der Hitzschlag nicht behandelt, kann er zum Tod führen.

Viele Studien haben die Auswirkungen von Hypohydratation auf die Leistungsfähigkeit eines Athleten untersucht. Der Verlust von Körperwasser beeinflusst die physische [5, 130, 131, 133, 150] und die kognitive [56, 154] Leistungsfähigkeit eines Sportlers. Der Gewichts-/ Flüssigkeitsverlust wurde allerdings durch unterschiedliche Methoden wie Hitzeexposition (Sauna), körperliche Belastung, körperliche Belastung mit Hitzeexposition, Diuretika und Flüssigkeits- und Nahrungsrestriktion induziert. Caldwell et al. [26] konnten zeigen, dass nicht nur das Ausmaß der Dehydratation die Leistungsfähigkeit beeinflusst, sondern auch die Art und Weise, wie die Hypohydratation induziert wurde. Aus diesem Grund können die Ergebnisse dieser Studien nicht ohne Vorbehalt direkt miteinander verglichen werden. Anaerobe Leistungsfähigkeit [73] und isometrische Muskelkraft und -ausdauer [60] werden durch Hypohydratation kaum beeinflusst. Auf die maximale aerobe Leistungsfähigkeit ($VO_2\text{max}$) wirkt die Hypohydratation jedoch leistungsmindernd. Bei temperaturneutralen Umgebungsbedingungen kann der Körper eine Dehydratation von bis zu 3% des Körpergewichts ohne Leistungseinbußen tolerieren [130]. Ab einer Hypohydratation von über 3% beginnt eine signifikante Reduktion der $VO_2\text{max}$ [153]. Der Einfluss der Hypohydratation auf die Leistungsfähigkeit variiert somit in Abhängigkeit von Ausmaß des Flüssigkeitsdefizits und Umgebungstemperatur. Je höher der Flüssigkeitsverlust und die Umgebungstemperatur, desto stärker wird die Leistungsfähigkeit beeinträchtigt. In Abbildung 2.6 sind die wichtigsten Auswirkungen der Dehydratation auf den Körper und die Leistungsfähigkeit zusammengefasst.

2.3.3 Zellvolumenregulation

Hypo- bzw. hyperosmolare Zustände bewirken eine Flüssigkeitsverschiebung zwischen den Flüssigkeitsräumen. Auf zellulärer Ebene betrachtet, kommt es zu einer Vergrößerung oder Verkleinerung des Zellvolumens. Da das Volumen einer Zelle durch das Oberflächen-Volumenverhältnis gegeben ist, sind nur geringfügige Volumenänderungen

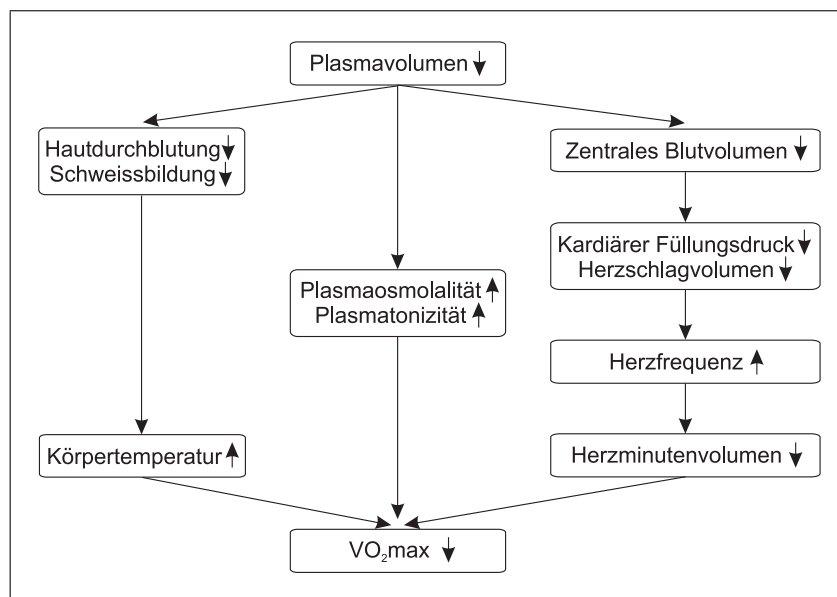


Abbildung 2.6: Die wichtigsten physiologischen Auswirkungen einer Dehydratation. Vor allem die kardialen Auswirkungen sowie der Körpertemperaturanstieg beeinflussen die körperliche Leistungsfähigkeit negativ.

möglich, ohne die Struktur einer Zelle zu zerstören. Eukaryotische¹ Zellen haben einen komplexen Mechanismus entwickelt, um aktiv ihr Volumen zu regulieren und das osmotische Gleichgewicht zwischen dem Intrazellular- und Extrazellularraum aufrechtzuerhalten [25]. Jeder Zelltyp besitzt dabei spezifische Membrantransporter und -kanäle. Der Grundmechanismus ist dabei aber für alle Zellen derselbe [39]. In Abbildung 2.7 wird das Prinzip der Volumenregulierung mittels Ionenkonzentrationsänderungen dargestellt.

Die Volumenregulation mittels Elektrolyten ist sehr effektiv und kann Volumenänderungen innerhalb weniger Minuten ausgleichen. Dieser Mechanismus hat aber auch Nachteile:

1. Der aktive Transport von Elektrolyten ist energieabhängig und somit auf optimale metabolische Bedingungen angewiesen.
2. Eine zu hohe intrazelluläre Akkumulation von Elektrolyten beeinträchtigt die zellulären Funktionen (Proteindenaturation, Beeinträchtigung des Membranpotentials, Hemmung enzymatischer Reaktionen [39]).

¹Zellen mit einem hochdifferenziertem echten, von einer Membran umgebenen Zellkern.

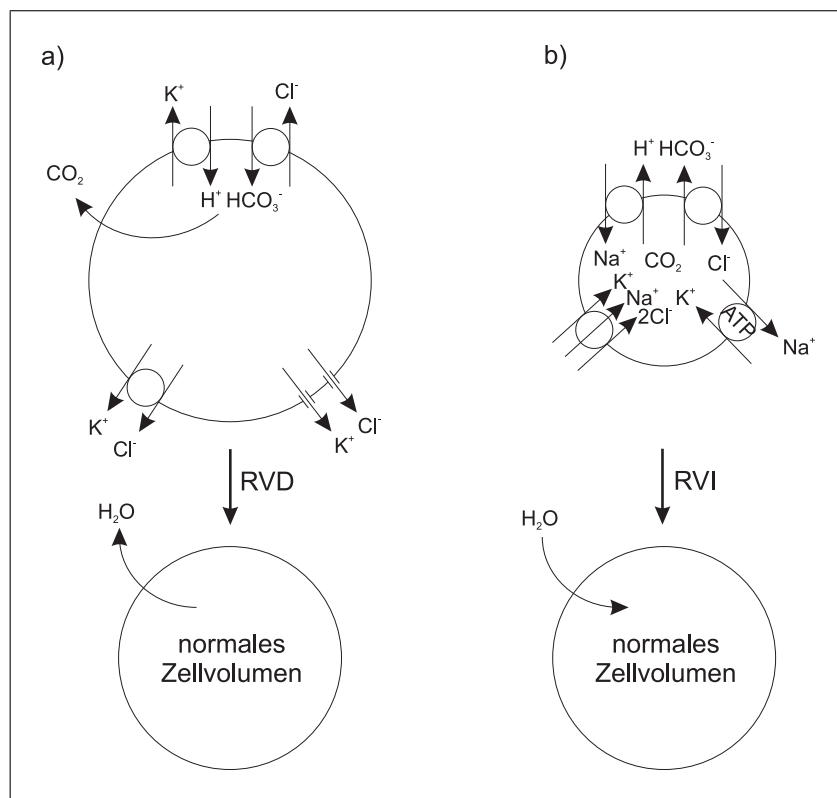


Abbildung 2.7: Zellvolumenkorrektur: Eukariotische Zellen können aktiv ihr Volumen regulieren. Dazu aktivieren sie spezifische Ionenkanäle um Ionen abzugeben oder aufzunehmen. **a)** Regulierte Volumenverkleinerung (RVD). Die Zelle gibt Wasser ab, indem sie die intrazelluläre Ionenkonzentration senkt. **b)** Regulierte Volumenvergrößerung (RVI). Die Zelle erhöht die intrazelluläre Ionenkonzentration und zieht so Wasser aus dem Extrazellularraum nach (modifiziert nach [39]).

Bei längerandauernden Verschiebungen des osmotischen Gleichgewichtes haben eukaryotische Zellen einen zweiten Mechanismus entwickelt, der ihnen erlaubt die intrazelluläre Osmolalität ohne Beeinträchtigung der Zellfunktionen zu regulieren. Dabei akkumulieren sie intrazelluläre Metabolite, die osmotisch aktiv sind und somit die Funktion der Elektrolyte übernehmen können. Diese Verbindungen werden *Osmolyte* genannt und können in drei Gruppen aufgeteilt werden [152]:

- Polyole (z.B. Sorbit, myo-Inosit)
- Aminosäuren (z.B. Taurin, Alanin, Prolin)
- Methylamine (z.B. Betain, Glyzerophosphocholin)

2.3.3.1 Mechanismus der Osmolytregulation

Über die Aktivierung der Gene, die entsprechende Enzyme für die Synthese oder die Membrantransportproteine der Osmolyte kodieren, erfolgt die intrazelluläre Anreicherung der osmotisch aktiven Verbindungen. Dabei binden Transkriptionsfaktoren (tonicity-response proteins) an die entsprechenden Sequenzen (tonicity-responsive enhancer), die in den Startregionen jedes „Osmolytgens“ liegen [39].

Sorbit wird über das Enzym Aldosereduktase aus Glukose synthetisiert. Eine Volumenverkleinerung infolge von Osmose stimuliert die Transkriptionsrate von Aldosereduktase. Inosit (myo-Inosit), Betain und Taurin werden über natriumgebundene Cotransporter aufgenommen. Eine Zellschrumpfung stimuliert die Transkriptionsrate der Transportmoleküle. Glyzerophosphocholin (GPC) wird durch Phospholipase aus Phosphatidylcholin synthetisiert und über das Enzym Phosphodiesterase in Glyzerophosphat und Cholin abgebaut. Eine Erhöhung der extrazellulären Osmolalität hemmt die Phosphodiesterase, was zu einem Anstieg der GPC Konzentration führt [152].

Die Erniedrigung der intrazellulären Osmolytkonzentration erfolgt über spezifische Membrankanäle, Reduktion der Transkriptionsraten, Deaktivierung der Osmolyt-Cotransporter und Abbau der Osmolyte in osmotisch minder aktive Verbindungen [39].

2.3.4 Die Blut-Hirn-Schranke

Das Zentralnervensystem (ZNS) ist vom übrigen Organismus durch die *Blut-Hirn-Schranke* (BHS) getrennt. Die BHS wird durch ein Netzwerk von kapillarendothel Zellen, die durch „tight junctions“ verbunden sind und wiederum von einer Schicht Gliazellen umgeben sind, gebildet. Während Wasser die BHS leicht passieren kann, behindert die Struktur der BHS einen schnellen Ionentransport vom Blutplasma ins ZNS. Dieser Umstand kann bei einer plötzlichen Elektrolytentgleisung zu einer starken Flüssigkeitsverschiebung führen. Ein schneller Natriumanstieg im Plasma, wie er bei einer akuten Hypernatriämie erfolgen kann, steigert den osmotischen Gradienten an der BHS. Daraus folgt, dass Wasser aus dem Extrazellularraum des ZNS (interstitielle Flüssigkeit) in die Blutgefäße diffundiert. Die fortschreitende Erhöhung der Tonizität der interstitiellen Flüssigkeit bedingt auch eine Volumenverkleinerung der Neuronen und Gliazellen. Da diese Zellen, wie alle eukariotischen Zellen, versuchen, ihr Volumen durch den aktiven Transport von Ionen aus dem Intra- in den Extrazellularraum zu erhalten, steigt die Tonizität der interstitiellen Flüssigkeit weiter an [146]. Eine solche forcierte, zerebrale Dehydratation kann zur Ruptur von Blutgefäßen in den Meningen führen [91].

Die umgekehrte Situation kann bei einem abrupten Abfallen der Natriumkonzentration im Blutplasma, z.B. bei einer zu raschen Korrektur eines hyperosmolaren Zustands, erfolgen. Dabei fließt Wasser vom Blutplasma durch die BHS ins ZNS [146]. Das verursacht eine Vergrößerung des Volumens der interstitiellen Flüssigkeit im ZNS, und es kann ein Hirnödem entstehen. Auch bei diesem Zustand versuchen Neuronen und Gliazellen durch den Exkretion von Elektrolyten ihr Volumen zu halten. Dies verstärkt jedoch den Einfluss von Wasser über die BHS.

Die Auswirkungen von schnellen osmotischen Veränderungen wurden vor allem an Ratten untersucht. Um schwere hyperosmolare Zustände herzustellen, wurde den Tieren dazu meistens eine hypertone NaCl-Lösung intraperitoneal oder intravenös injiziert. Dies führte immer zu einer sofortigen Abnahme des Hirnwassergehaltes. Holliday et al. konnten nach einer dreistündigen Hypernatriämie einen Anstieg der Na^+ bzw. Cl^- -Konzentrationen von 34 respektive 60% und eine Reduktion des Hirnwassers von 14% nachweisen [71]. Cserr et al. zeigten, dass der Verlust von Hirnwasser proportional zum Anstieg der Plasmaosmolalität verläuft und bereits nach ca. 15 bis 30 Minuten nach Injektion einer hypertonen NaCl-Lösung beginnt [36]. Diese beiden Studien geben allerdings keinen Aufschluss darüber, ob der Flüssigkeitsverlust die verschiedenen Kompartimente des Hirns (Intrazelluar-, Extrazellularraum, CSF) gleich stark betrifft.

In einer weiteren Studie zeigten Cserr et al., dass nach einer einmaligen intraperitonealen Injektion von hypertotonischer NaCl-Lösung in Ratten, nach 90 Minuten ein 7%iger Verlust von Hirnwasser eintritt, der hauptsächlich durch eine Reduktion des extrazellulären Flüssigkeitsraumes erfolgt [35]. Messungen der intra- und extrazellulären Ionenkonzentrationen ergaben eine Reduktion der extrazellulären Na^+ , Cl^- und K^+ Konzentrationen von 32%, 21% bzw. 42%, während die intrazellulären Konzentrationen um 100%, 169% bzw. 5% anstiegen.

2.3.5 Die Auswirkungen von langandauernden aeroben Belastungen auf das Hirn

Die Auswirkungen von langandauernden körperlichen Belastungen auf das Hirn sind nicht genau bekannt. In erster Linie wurden die Auswirkungen von physischer Aktivität auf das Hirn im Bezug auf Ermüdungszustände untersucht. Bei der Beschreibung von Ermüdungszuständen wird zwischen zwei Arten von Ermüdung, der peripheren Ermüdung (von der Muskulatur ausgehend) und der zentralen Ermüdung (vom ZNS ausgehend), unterschieden. In der Vergangenheit wurden vor allem die Faktoren (Belastungsdauer, Belastungsintensität, Herzkreislaufsystem, Muskelmetabolismus, Ernäh-

rung und Thermoregulation), die die periphere Ermüdung beeinflussen, untersucht. Einen Überblick verschaffen die Übersichtsarbeiten von Febbraio [47], Hargreaves und Febbraio [64], Kirkendall [75] und Noakes [106].

Die Mechanismen der zentralen Ermüdung sind noch nicht ausreichend aufgeklärt. Es ist bekannt, dass langandauernde Ausdauerleistungen mit metabolischen und neurohumoralen Veränderungen im Hirn verbunden sind. Diese Veränderungen werden als Ursache für die zentrale Ermüdung angesehen. Verschiedene Theorien, die die Akkumulation oder den Abbau von verschiedenen Substanzen im Hirn als Ursache für die zentrale Ermüdung sehen, wurden aufgestellt.

Newsholme und Blomstrand [105] sehen in der Erhöhung der freien Tryptophankonzentration und somit des 5-Hydroxytryptamins (5-HT) im Hirn eine mögliche Erklärung für die zentrale Ermüdung. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass die 5-HT Konzentration im Hirn nach langandauernden Ausdauerbelastungen ansteigt [11]. 5-HT wird im Hirn aus freiem Tryptophan synthetisiert. Freies Tryptophan wird an der Blut-Hirn-Schranke über denselben Transporter (L-System) wie die verzweigtkettigen Aminosäuren (branched-chain amino acid, BCAA: Leucine, Isoleucine und Valine) aufgenommen. Das freie Tryptophan konkurriert also mit den BCAA's um die Aufnahme über das L-System ins Hirn.

Als Folge von langandauernden intensiven Ausdauerleistungen werden die Glykogenspeicher der Muskulatur und der Leber entleert. Die aktive Muskulatur nimmt so dann als alternative Energiequelle vermehrt BCAA auf. Die Plasmakonzentration der BCAA sinkt. Gleichzeitig steigt die Konzentration der freien Fettsäuren im Plasma an. Die Konzentration des freien Tryptophan wird wiederum durch die Konzentration der freien Fettsäuren beeinflusst, da die freien Fettsäuren mit dem freien Tryptophan um die Bindungsstellen am Albumin konkurrieren [151]. Steigt die Konzentration der freien Fettsäuren, wird das Tryptophan von seinen Bindungsstellen am Albumin verdrängt. Somit steigt die Konzentration des freien Tryptophans an, und es tritt eine Verschiebung des Verhältnisses der Konzentration freien Tryptophans zu BCAA ein. Dadurch wird vermehrt freies Tryptophan über die Blut-Hirn-Schranke ins Hirn aufgenommen und infolgedessen mehr 5-HT synthetisiert (BCAA-Hypothese) [9].

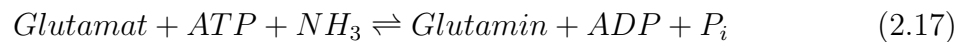
Sollte diese Theorie richtig sein, so müsste eine ausreichende Erhöhung der BCAA-Konzentration im Plasma während Belastung die vermehrte Aufnahme von freiem Tryptophan über die Blut-Hirn-Schranke ins Hirn unterdrücken, und somit das Auftreten von zentralen Ermüdungserscheinungen hinauszögern.

Zu dieser BCAA-Hypothese existieren widersprüchliche Studien. Blomstrand et al. [10] und Mittleman et al. [99] konnten mit ihren Ergebnissen zeigen, dass durch eine BCAA-

Supplementation die zentrale Ermüdung hinausgezögert werden kann. Varnier et al. [147] widersprechen jedoch diesen Ergebnissen. Sie konnten keinen signifikanten Leistungsdaueranstieg durch zusätzliche BCAA-Gabe nachweisen.

Ein weiteres Modell zur Erklärung von zentraler Ermüdung liegt in der Akkumulation von Ammoniak im Blutplasma bei langandauernder intensiver Belastung. Ammoniak beeinflusst u.a. die zerebralen Konzentrationen von Glutamat (Glu), Glutamin (Gln) und γ -Aminobuttersäure (GABA).

Bei intensiven Ausdauerbelastungen steigt die Ammoniakkonzentration im Plasma an [140]. Dieser Anstieg dürfte durch die Deaminierung des Nukleotids Purin und durch den Aminosäurenkatabolismus in den aktiven Myofibrillen zustande kommen [111]. Da Ammoniak die Blut-Hirn-Schranke passieren kann [32], reichert sich Ammoniak sowohl intra- als auch extrazellulär im Hirn an, wo es toxisch auf das zentrale Nervensystem wirkt [62]. Eine erhöhte Ammoniakkonzentration im Hirn führt zu einer vermehrten Glutaminsynthese in den Gliazellen (über die Glutaminsynthetase). Dies ist der Hauptabbauweg zur Detoxikation des Ammoniak im Hirn, da es im ZNS keinen ausreichend wirksamen Harnstoffzyklus gibt [111]. Dabei wandelt das Enzym Glutaminsynthetase unter Verbrauch von ATP, Glu und Ammoniak in Gln um.



Diese Gln-Synthese findet bei erhöhtem NH_3 auch im Muskelgewebe statt. Da Glu aber auch an der Synthese von GABA beteiligt ist, wird durch den Abbau von Ammoniak über Glu auch die Synthese von GABA reduziert. Ein erhöhter Ammoniakspiegel im Hirn kann also die zerebrale Konzentration von Glu, Gln und GABA beeinflussen. Es wird vermutet, dass diese Konzentrationsänderungen einen Einfluss auf die zentrale Ermüdung haben [38, 62, 112]. Diese Theorie wurde von Guezennec et al. [62] bei Untersuchungen an Ratten bestätigt.

Die unterschiedlichen Theorien über die Ursachen einer zentralen Ermüdung zeigen, dass man sich über die Auswirkungen von langandauernden intensiven Belastungen auf das Hirn noch nicht im Klaren ist.

2.4 Herleitung der Fragestellung

Frühzeitig einsetzende zentralnervöse Störungen wie z.B. visuelle, kognitive, koordinative und emotionale Beeinträchtigungen können Hinweise sein, dass die Funktionen des Hirns durch Dehydratation beeinflusst werden. Hypothetisch könnte also auch für das Hirngewebe ein Wasser- und/ oder Elektrolytverlust postuliert werden. Im Tiermodell konnte diese Hypothese jedoch nicht bestätigt werden. Wie in Abschnitt 2.3.2 beschrieben, konnten Nose et al. [107] bei Ratten, die durch Hitzeexposition um 10% dehydriert wurden, keinen signifikanten Wasserverlust des Hirns nachweisen. Diese Ergebnisse können aber nicht ohne Vorbehalt auf eine Dehydratation, die durch physische Bewegung über den Verlust von Schweiß induziert wird, übertragen werden.

Die Hypohydratation, die durch physische Belastung verursacht wird, bedingt einen größeren Verlust an Intrazellulärwasser als eine Hypohydratation, die durch Hitzeexposition erfolgt [130]. Des Weiteren gibt es keine Erkenntnisse über die lokalen Differenzen einzelner Hirnareale bezüglich eines intra- und / oder extrazellulären Flüssigkeitsdefizits nach körperlicher Belastung. Diese Defizite sind jedoch ebenso wie Temperaturdifferenzen zu vermuten, da bei körperlicher Aktivität auch die Durchblutung einzelner Hirnareale signifikant differiert [70]. Humane Studien existieren jedoch hierfür ebenso wenig wie für die zugrunde liegenden regulatorischen Mechanismen des zerebralen Flüssigkeitshaushaltes während und nach körperlicher Belastung.

Die Menge des gesamten Körperwassergehalts und die Konzentration der darin gelösten Salze (Osmolalität) werden durch eine Vielzahl von hormonellen und neurogenen Mechanismen innerhalb enger Grenzen gehalten [53]. Kommt es zu Störungen dieser homöostatischen Mechanismen, so kann das zur Retention bzw. zum Verlust von Wasser und/ oder Elektrolyten führen mit der Folge von Hyperhydratation (Hypoosmolalität) oder Dehydratation (Hyperosmolalität). Sowohl hyper- wie auch hypoosmotische Zustände können zu neurologischen Beeinträchtigungen führen.

In Form einer protektiven Maßnahme bildet das Hirn bei osmotischen Belastungen jedoch neue intrazelluläre Osmolyte, die sich in hohen Konzentrationen intrazellulär anreichern können, ohne nachteilige Wirkungen für die zelluläre Struktur oder Funktion zu entfalten. Durch diese Akkumulation von intrazellulären Osmolyten steigt die intrazelluläre Osmolalität an, so dass ein Verlust von intrazellulärem Hirnwasser auf ein Minimum gehalten werden kann [3]. Die Geschwindigkeit der Neubildung oder des Abbaus von endogenen Osmolytmolekülen *in vivo* ist nicht genau bekannt [63]. *In vitro* Untersuchungen zur Volumenregulation von eukariotischen Zellen haben ergeben, dass, nachdem Zellen einem hyperosmolaren Milieu ausgesetzt wurden, die Transkription von mRNA nach wenigen Stunden einsetzt, und die Elektrolyte nach ca. 8-12 Stunden

durch Osmolyte ersetzt werden [79, 80, 89]. Die Akkumulation der Osmolyte erfolgt über den aktiven Transport aus dem Extrazellularraum, durch Neusynthese oder durch die Inhibition des enzymatischen Osmolytabbaus. Dieser Prozess dauert 24-72 Stunden und ist abhängig vom Zellentyp sowie vom Grad der Hyperosmolalität [79, 80, 89]. Inwieweit sich eine kontinuierliche Erhöhung der extrazellulären Osmolalität, wie sie bei einer Dehydratation durch körperliche Betätigung eintritt, auf den Flüssigkeitshaushalt des Hirns auswirkt, ist nicht bekannt.

Die wichtigsten Osmolyte wie u.a. myo-Inosit, N-Azetylaspartat, Cholin einschließlich Glyzerophosphorylcholin und Taurin [144, 145] sind einer quantitativen Erfassung mittels der Protonenspektroskopie (^1H -MRS) des Hirns *in vivo* zugänglich [52, 95, 128]. In chronischen hypo- bzw. hypernatriämischen Zuständen wurden mit dieser Methode relative Veränderungen des MR-spektroskopischen Metabolitprofils, speziell ein signifikanter Anstieg des Inosits bei Hypernatriämie [83] und eine Verringerung bei Hyponatriämie um bis zu 50% [149], gefunden. Auch bei Patienten mit chronischem Nierenversagen und Hämodialysetherapie wurden MR-spektroskopisch, stärker in der grauen als in der weißen Hirnsubstanz, erhöhte zerebrale Konzentrationen von Inosit und Cholin gemessen, jedoch nicht von Kreatin und N-Azetylaspartat [96]. Mit der in Abschnitt 2.2.3.3 dargestellten Methode der Bestimmung der Voxelkompartimentierung besteht mit Hilfe der MRS zusätzlich die Möglichkeit den Anteil des Gewebewassers und der CSF zu bestimmen. Somit könnte eine Flüssigkeitsverschiebung im Hirn nachgewiesen werden.

Da bisher keine Studien bezüglich zerebraler volumenregulatorischer Metabolite in Zusammenhang mit körperlicher Aktivität und einer hierdurch hervorgerufenen Dehydratation existieren, sollten folgende zentrale Fragestellungen untersucht werden:

1. Können durch eine Dehydratation in Folge einer körperlichen Belastung Veränderungen von zerebralen Osmolyte resultieren?
2. In welchem Ausmaß stehen diese möglichen Veränderungen im Verhältnis zur verlorenen Flüssigkeitsmenge?
3. Kann eine Flüssigkeitsverschiebung zwischen dem Gewebewasser und der CSF nachgewiesen werden?
4. Können durch langandauernde Belastungen Verschiebungen in den der ^1H -MRS zugänglichen Metaboliten gemessen werden?

Wie in Abschnitt 2.3.5 beschrieben wurde, sind die Auswirkungen von langandauernden Belastungen auf das Hirn nicht genau bekannt. Deshalb sollte zusätzlich zur

Dehydratationsstudie untersucht werden, ob durch langandauernde Belastungen, wie sie bei einem Marathonlauf auftreten, Änderungen in den der ^1H -MRS zugänglichen Metaboliten nachgewiesen werden können. Bei dieser Studie durften die Probanden *ad libitum* Flüssigkeit während der Belastung aufnehmen, um eine Dehydratation zu verhindern.

Kapitel 3

Methoden

Diese Arbeit wurde von der Ethikkommission am Campus Charité Mitte der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität geprüft und bewilligt. Alle spektroskopischen Experimente wurden in der Klinik für Strahlenheilkunde, Campus Virchow-Klinikum, Charité Berlin¹ durchgeführt.

Die spektroskopischen Untersuchungen dieser Arbeit wurden in drei Studien aufgeteilt:

- Die erste Studie befasste sich mit der Reproduzierbarkeit der ^1H -MR-Spektroskopie. Dazu wurde ein Phantom über einen Tag zu acht verschiedenen Zeitpunkten spektroskopiert. Die Ergebnisse dienten dazu die Stabilität der Messapparatur über einen Tag zu bestimmen.
- Die zweite Studie umfasste die Untersuchung von Hirnmetaboliten bzw. -osmolyten, die mittels der ^1H -Spektroskopie erfassbar sind, vor und nach Dehydratation sowie nach einer drei stündigen Rehydratationsphase. Dafür wurden 14 gesunde männliche Probanden während 2.5 Stunden ohne Flüssigkeitsersatz auf einem Fahrradergometer bei 60% ihrer individuellen anaeroben Schwelle belastet.
- Die dritte Studie diente zur Untersuchung von Hirnmetaboliten, die mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie nachweisbar sind, nach langandauernden Ausdauerbelastungen mit Flüssigkeitsersatz. Dazu wurden 13 gesunde männliche Probanden vor und nach dem *real*,-Berlin Marathon untersucht.

In den folgenden Abschnitten werden die Methoden der Untersuchungen beschrieben.

¹Klinik für Strahlenheilkunde, Campus Virchow-Klinikum, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

3.1 Spektroskopie

3.1.1 Hardware

Die spektroskopischen Untersuchungen wurden an einem GE Signa Horizon 3T94 Scanner (General Electric Healthcare, Milwaukee, WI, USA) bei einer Feldstärke von 3 Tesla durchgeführt. Die zum System gehörende Quadratur-Kopfspule wurde als Empfangs- und Sendespule benutzt.

3.1.2 Software

3.1.2.1 Datenverarbeitung

Die spektroskopischen Daten wurden auf eine Sun Ultra 60 Workstation (Sun Microsystems Inc., Mountain View, CA, USA) exportiert und dort mit Hilfe des Programms SAGE (Spectroscopy Analysis of General Electric) weiter verarbeitet. Dabei wurden die Rohdaten für eine erste Darstellung fouriertransformiert, phasenkorrigiert, 1.25 Hz gaussgefiltert und zweifach mit Nullen aufgefüllt (Zerofilling). Die Rohdaten wurden auf einem Netzlaufwerk gespeichert. Alle spektroskopischen Daten wurden mit dem kommerziell erhältlichen Programm LCModel (Linear Combination of Model Spectra) Version 6.0-2 (Stephen Provencher, Oakville, Ontario, Ca) quantifiziert [120, 121]. Dieses Programm ermöglicht eine vollautomatische, nichtinteraktive und benutzerunabhängige Auswertung von spektroskopischen Daten. Dadurch kann eine Beeinflussung der Resultate durch den Anwender weitgehend ausgeschlossen werden.

LCModel LCModel benutzt zur Quantifizierung eines Spektrums einen Basisdatensatz. Dieser Basisdatensatz beinhaltet die *in vitro* Spektren eines jeden einzelnen zu quantifizierenden Metaboliten. LCModel entnimmt dem Basisdatensatz die Amplituden, Frequenz- und Phaseninformationen der einzelnen Metaboliten und versucht mit Hilfe dieser Informationen jeden Metaboliten des *in vivo* Spektrums zu identifizieren und zu quantifizieren.

Um eine qualitativ hochwertige Absolutquantifizierung mit LCModel zu erreichen und da noch kein Basisdatensatz für den GE Signa Horizon 3T94 Scanner vorhanden war, wurde ein Basissatz von *in vitro* Modellspektren erhoben. Dazu wurden die in Tabelle 3.2 aufgelisteten Metaboliten in einer wässrigen Stammlösung gelöst. Die genaue Zusammensetzung der Stammlösung kann der Tabelle 3.1 entnommen werden. Die cholinhaltigen Verbindungen (GPC, PCh) konnten nicht in dieser Stammflüssigkeit aufgelöst werden, da sie zusammen mit dem Phosphat des Puffers ein Salz gebildet

Tabelle 3.1: Zusammensetzung der Stammlösung.

Verbindung	Abkürzung	Konz.[mM]
3-(Trimethylsilyl)-1-Propansulphatsäure Natriumsalz	$C_6H_{15}NaO_3SSi$	2.0
di-Kaliumhydrogenphosphat	K_2HPO_4	72.0
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	28.0
Natriumformiat	$CHNaO_2$	200.0
Natriumazid	NaN_3	1000.0

hätten. Deshalb wurden sie allein in einer Lösung versetzt mit 2 mM 3-(Trimethylsilyl)-1-Propansulphatsäure Natriumsalz (TSPS) und 200 mM Natriumformiat gelöst.

TSPS ($C_6H_{15}NaO_3SSi$) und Natriumformiat ($CHNaO_2$) ergeben eine Resonanz bei 0.0 ppm bzw. 8.5 ppm. Diese Referenzpeaks werden unter anderem für die Phasenkorrektur der Spektren herangezogen. Die Kaliumphosphate (K_2HPO_4 und KH_2PO_4) dienen als pH-Puffer, um die Lösungen im für das Hirn biologisch relevanten pH-Bereich von 7.0-7.2 zu halten. Ohne die Beigabe von Natriumazid (NaN_3), können die Metabolitlösungen innerhalb von wenigen Tagen durch mikrobiologische Verunreinigungen für die Akquisition von Grundspektren unbrauchbar werden. NaN_3 erlaubt es, die Lösungen bei tiefen Temperaturen (ca. 5°C) über einen Zeitraum von mehreren Monaten zu halten.

Der pH-Wert jeder Metabolitlösung wurde mit einem pH-Meter CG 843P (Schott AG, Mainz, Deutschland) überprüft. Da unterschiedliche pH-Werte der Metabolitlösungen zu signifikanten Resonanzverschiebungen führen können, wurde der pH-Wert von allen Lösungen um 7.0-7.2 gehalten. Wenn erforderlich, wurde der pH der Metabolitlösungen mit konzentrierter Natronlauge (NaOH) oder Salzsäure (HCl) korrigiert. Die Metabolitlösungen wurden in 250 ml Rundkolben (Schott AG, Mainz, Deutschland), deren Hals abgetrennt war, gefüllt und mit einem Kunststoffstopfen verschlossen. Um Verwirbelungen in den Metabolitlösungen durch Vibrationen des Scanners bei den Gradientenschaltungen während der Messungen zu vermeiden, wurde eine freistehende Aufhängung für die Rundkolben konstruiert (Abbildung 3.1). Es wurden 14 Metaboliten *in vitro* gemessen (Tabelle 3.2).

Tabelle 3.2: Metabolite für Grundspektren

Metabolit	Abkürzung	Konz. [mM]	pH
L-Alanin	Ala	100.0	7.21
L-Aspartat	Asp	40.0	7.02
Kreatin	Cr	50.0	7.22
γ -Aminobuttersäure	GABA	200.0	7.17
Glucose	Glc	200.0	7.18
Glutamin	Gln	100.0	7.19
Glutamat	Glu	50.0	7.18
Glyzerophosphocholin	GPC	25.0	7.0
Glyzin	Gly	200.0	7.16
myo-Inosit	mI	200.0	7.17
L-Laktat	Lac	100.0	7.14
N-Azetylaspartat*	NAA	50.0	7.15
Phosphocholin [†]	PCh	27.0	7.01
Taurin	Tau	200.0	7.10

*pH musste durch Zugabe von NaOH korrigiert werden.

[†]pH musste durch Zugabe von HCl korrigiert werden.

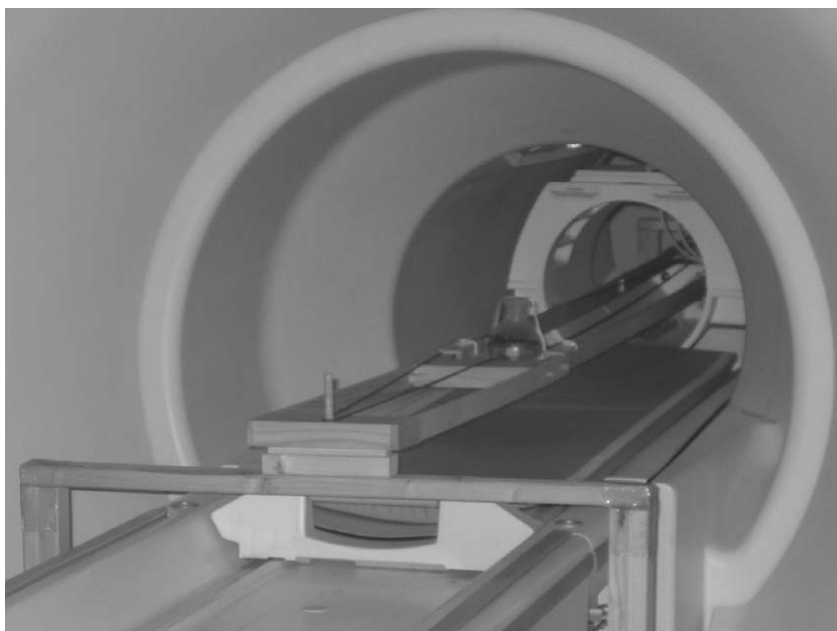


Abbildung 3.1: Die Aufhängung für die Messung der Metabolitlösungen wurde so konstruiert, dass kein Kontakt mit dem NMR-Gerät bestand. So konnte verhindert werden, dass sich durch Vibrationen Verwirbelungen in den Metabolitlösungen bildeten.

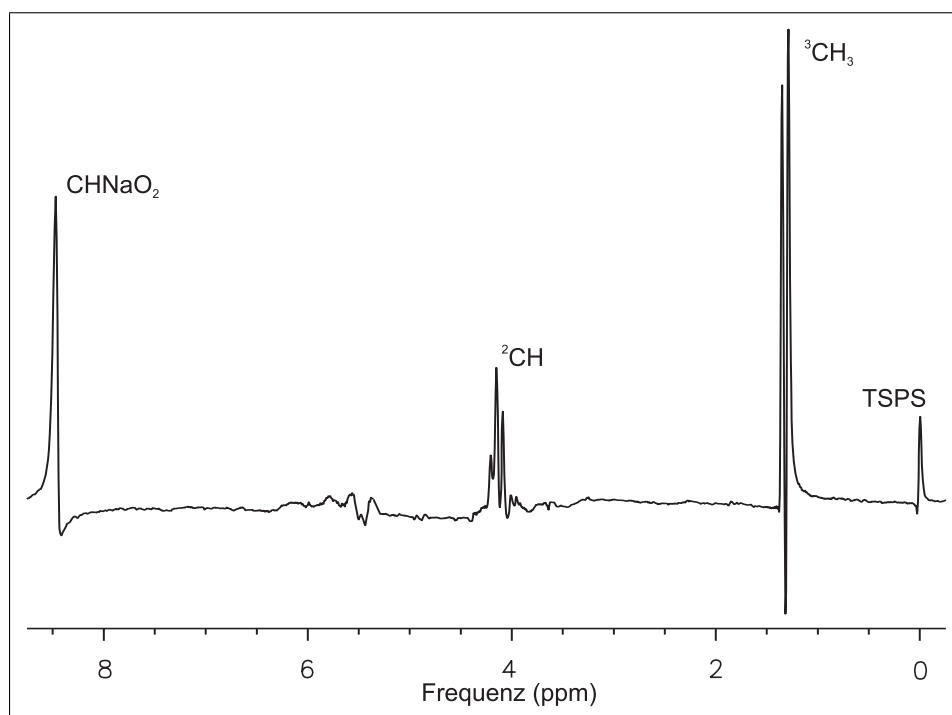
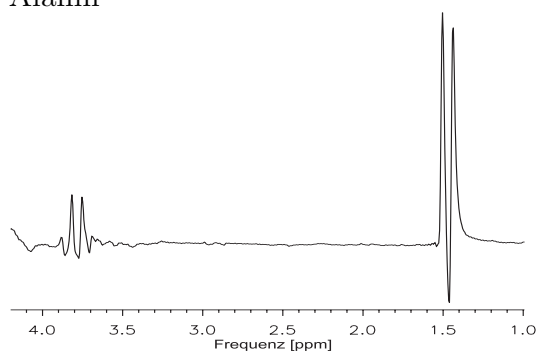


Abbildung 3.2: Laktatspektrum mit Referenzresonanzen bei 8.5 ppm von Natriumformiat und bei 0.0 ppm von TSPS. Da alle Spektren der Metabolitlösungen dieselben Referenzresonanzen haben, können sie untereinander normiert werden.

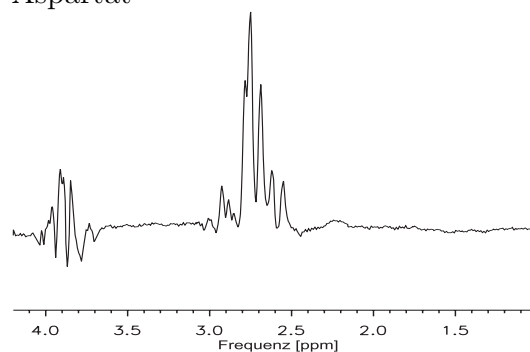
Die Metabolitlösungen wurden 8 Stunden vor jeder Messung in den klimatisierten Untersuchungsraum gebracht, damit sie die Raumtemperatur von 21°C annehmen konnten. Zur Akquisition der Spektren wurden folgende Parameter verwendet: PRESS, $\text{TE}=30\text{ms}$, $\text{TR}=10000\text{ms}$, $\text{NEX}=128$ Akquisitionen. Die Grundspektren wurden nach der Anleitung von LCModel [122] weiterverarbeitet. Abbildung 3.2 zeigt ein Laktatspektrum von 8.5 bis 0.0 ppm mit den Referenzresonanzen von CHNaO_3 und TSPS.

Abbildung 3.3 und 3.4 zeigen die Spektren der einzelnen Metabolitlösungen. Sie wurden alle mit dem Programm Sage bearbeitet. Die Rohdaten wurden fouriertransformiert, mit 1.25 Hz Gauss gefiltert und zweifach mit Nullen aufgefüllt.

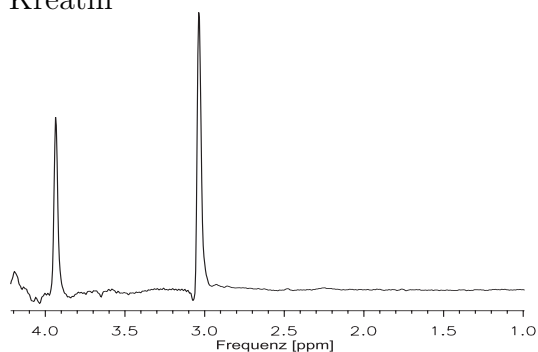
Alanin



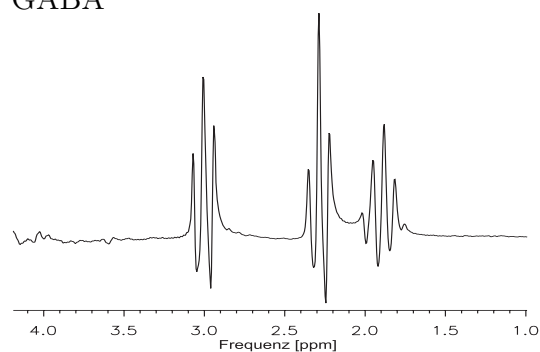
Aspartat



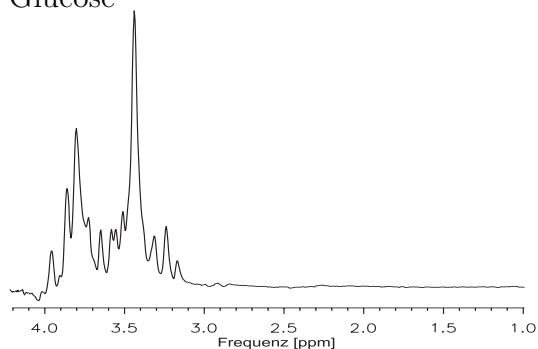
Kreatin



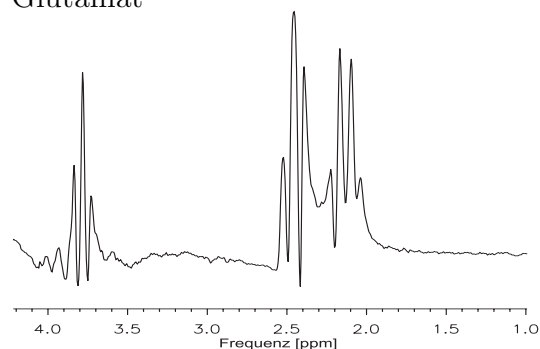
GABA



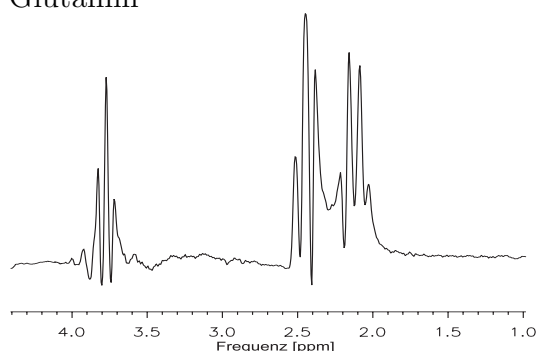
Glucose



Glutamat



Glutamin



Glyzerophosphocholin

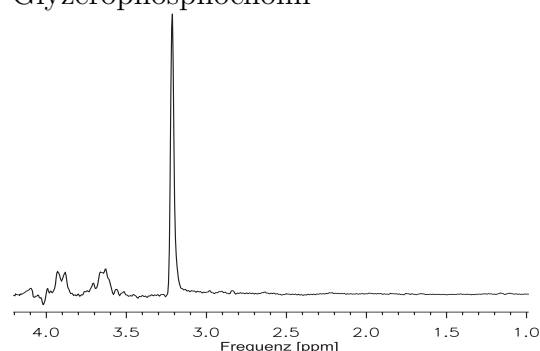


Abbildung 3.3: Grundspektren der Metaboliten Ala bis GPC. Alle Spektren wurden mit PRESS (TE/TR = 30/10'000 ms, NEX = 128, VOI = 8 ml) bei 3.0T akquiriert.

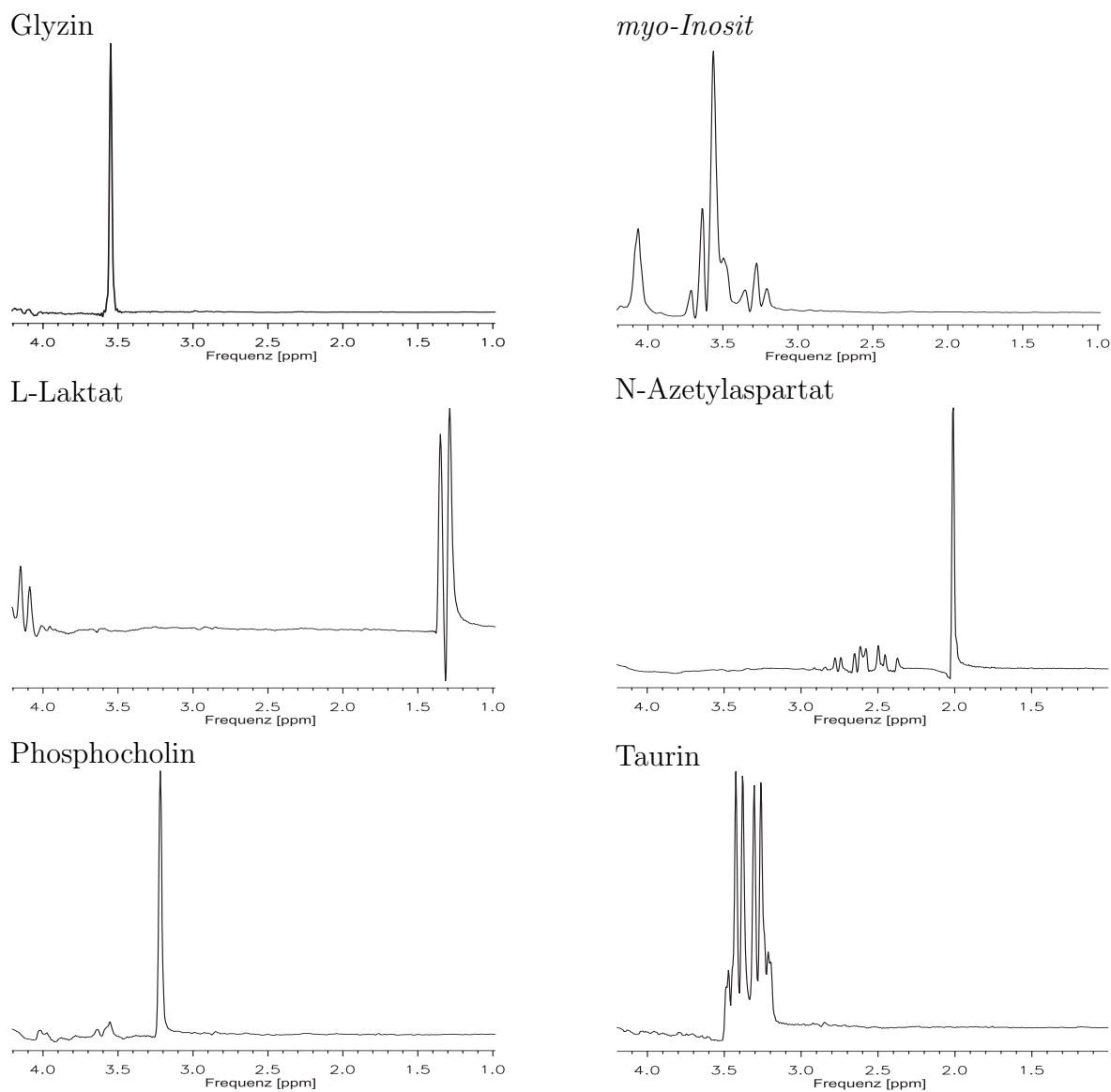


Abbildung 3.4: Grundspektren der Metaboliten Gly bis Tau. Alle Spektren wurden mit PRESS (TE/TR = 30/10'000 ms, NEX = 128, VOI = 8 ml) bei 3.0T akquiriert.

3.2 Reproduzierbarkeit der ^1H -MR Spektroskopie

Damit sichergestellt werden konnte, dass die Messungen eines Individuums über einen Tag verteilt nicht durch Geräteschwankungen verfälscht werden, wurde eine Reproduzierbarkeitsstudie durchgeführt. In dieser Studie wurde das Spektroskopiephantom (General Electric Healthcare, Milwaukee, WI, USA) mit genau definierter Zusammensetzung über einen Tag in acht separaten Messungen untersucht. Zwischen jeder Messung wurde das Phantom aus dem Gerät entfernt. Das Phantom wurde bei jeder Messung exakt in derselben Lage in der Quadratur Kopfspule positioniert. Eine Messung beinhaltete ein Scoutbild sowie die Akquisition von 5 Spektren mit PROBE-p, $\text{TR} = 2000\text{ms}$, $\text{TE} = 30\text{ms}$ und $\text{NEX} = 64$ Mittelungen.

PROBE (*Proton Brain Exam*) ist eine von General Electric entwickelte standardisierte Protokoll zur automatischen Akquirierung eines Protonen-Spektrums aus einem einzelnen, quaderförmigen Volumen im Hirn. Dieses Protokoll kann sowohl mit einer STEAM-Lokalisierungssequenz (PROBE-s) als auch mit einer PRESS-Lokalisierungssequenz (PROBE-p) kombiniert werden.

3.3 Dehydrationsstudie

Mit Hilfe der MR-Spektroskopie wurde der Einfluss von Dehydratation, hervorgerufen durch extensive sportliche Ausdauerbelastung ohne Flüssigkeitszufuhr, auf zerebrale Osmolyte untersucht. Es durchliefen 14 gesunde, männliche Probanden die Studie.

3.3.1 Studiendesign

Der Einfluss von Dehydratation auf die intrazellulären zerebralen Osmolytkonzentrationen wurde zu drei verschiedenen Zeitpunkten untersucht. Dazu erfolgte eine Messungen in euhydriertem Zustand (Euhyd) vor der Dehydratationsbelastung. Direkt nach dieser 2.5 Stunden dauernden Belastung wurde die zweite Messung in dehydriertem Zustand (Dehyd) akquiriert. Im Anschluss an die zweite Messung begann eine dreistündige Rehydratationsphase. Nach Abschluss dieser Phase erfolgte die dritte Messung in rehydriertem Zustand (Rehyd). Die Dehydratationsbelastung der Probanden fand auf einem Fahrradergometer unter ärztlichem Monitoring statt. Im Anschluss an jede NMR-Messung wurde den Probanden Blut entnommen, um die Dehydratation mittels der Parameter Hämoglobin, Hämatokrit und Elektrolyte zu beschreiben.

3.3.1.1 NMR-Untersuchung

Zu Beginn jeder Messung wurde eine Serie von axialen Schichten erstellt (T_1 -gewichtete Inverse-Recovery-Fast Spin-Echo Pulssequenz (IR-FSE), Schichtdicke 4mm). Unter Zuhilfenahme dieser Bilder erfolgte die Platzierung der VOI's. Die Untersuchungsvolumina wurden durch einen erfahrenen Radiologen positioniert, um eine exakte Repositionierung für die zweite und dritte Messung anhand der Bilder und anatomischer Referenzpunkte zu garantieren.

Die spektroskopischen Untersuchungen erfolgten in drei $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$ großen VOI's (8ml), welche zum einen in die okzipitoparietale graue Substanz und zum anderen in die okzipitoparietale weiße Substanz (parietales Marklager) jeweils in der rechten und linken Hirnhälfte gelegt wurden (Abbildung 3.5). Aus jedem VOI wurden ein ^1H -Spektrum und eine T_2 -Relaxationszeitenmessung des Wassersignals akquiriert. Zuerst wurde das VOI in der grauen Substanz, dann das VOI in der weißen Substanz rechts und zuletzt das VOI in der weißen Substanz links gemessen. Die Spektren wurden mit PROBE-p, TR = 6000ms, TE = 30ms, NEX = 64 Mittelungen erhoben.

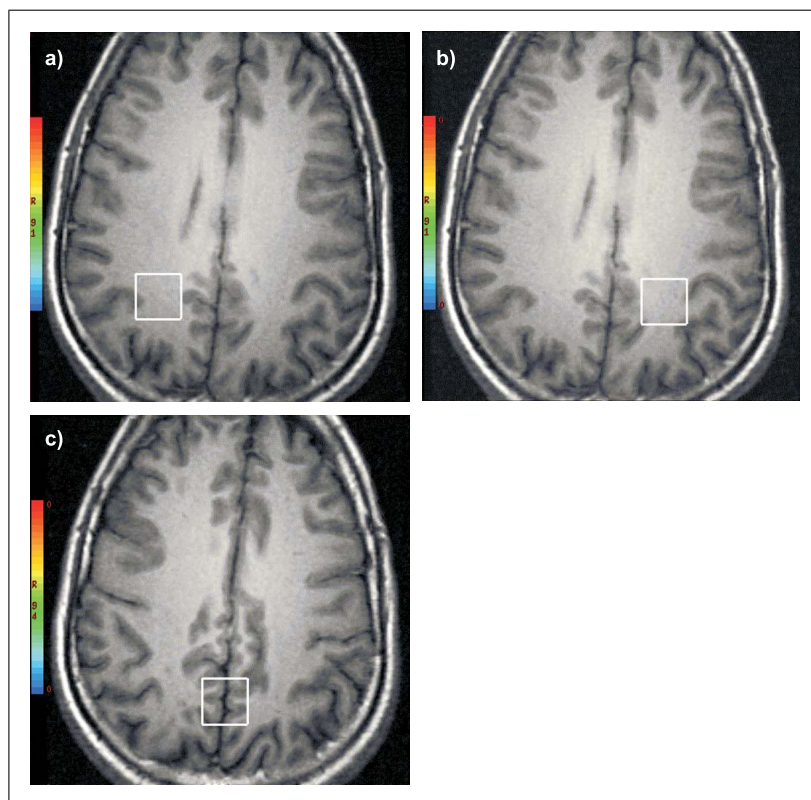


Abbildung 3.5: Die Untersuchungsvolumina von $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$ wurden in der weißen Substanz a) parietal rechts und b) parietal links sowie in der grauen Substanz c) okzipitoparietal platziert.

Die T_2 -Relaxationszeitenmessung des Wassersignals wurde bei 8 festen Echozeiten ($TE=30, 35, 40, 62, 100, 200, 500, 1500ms$) und einer Repetitionszeit von $TR=10000ms$ aufgenommen. Das gemessene Signal wurde in Sage fouriertransformiert, 2-fach mit Nullen aufgefüllt, mit 2 Hz Gauss gefiltert und phasenkorrigiert. Die gewonnenen Daten wurden biexponentiell nach der Gleichung 2.15 ausgewertet. Der Atrophieindex wurde nach Gleichung 2.16 berechnet. Eine MR-Untersuchung dauerte insgesamt ca. 45 Minuten.

3.3.1.2 Dehydratationsphase

Nach der ersten MR-Messung wurden die Probanden auf die Dehydratationsbelastung vorbereitet. Dazu wurden zuerst das Körpergewicht ohne Kleidung auf einer elektronischen Waage (Korona, Modell 1010031, Langgöns-Niederkleen, Deutschland) und die rektale Körpertemperatur mit einem digitalen Thermometer (K-Jump Health Co., Lot-No: 07/02, Ltd. Taiwan Imp., SCALA Electro GmbH, Stahnsdorf, Germany) bestimmt. Anschließend wurde der Hämatokrit des Probanden gemessen. Dazu wurde Kapillarblut vom Ohrläppchen des Probanden in einer Kapillare ($9 \mu l$) aufgenommen und der Hkt mit der Mikrozentrifuge Compur Microspin (Bayer Diagnostics Mfg Ltd, Sudbury, Suffolk, UK) ermittelt. Dieses Gerät zentrifugierte die Blutprobe während 3 Minuten und 20 Sekunden bei 11500 Umdrehungen pro Minute. Dabei wurde die Blutprobe in Plasma und Blutzellen aufgeteilt. Der Hkt konnte danach direkt auf einer Skala mit einer Genauigkeit von 1% abgelesen werden.

Die Probanden wurden mittels eines 1-Kanal-EKG's (Ableitung nach Nebh A., EKG-Verstärker von Biovision, Wehrheim, Deutschland, Software DasyLab Version 6.0 von National Instruments, Wehrheim, Deutschland) kardial kontinuierlich überwacht. Neben der EKG-Überwachung wurde den Probanden zusätzlich ein Polargurt (Polar Electro GmbH, Büttelborn, Deutschland) zur Aufzeichnung der Herzfrequenz auf einer Polar Vantage NV Uhr angelegt. Anschließend konnten die Athleten ihre Kleidung anziehen und wurden nochmals gewogen.

Die Dehydratationsbelastung erfolgte auf einem Cyclus2 Fahrradergometer (RBM Elektronik-Automation GmbH, Leipzig, Deutschland), auf dem die persönlichen Fahrradrahmen der Sportler befestigt wurden. Die Probanden mussten ihre Muskulatur vor dem Start der Belastungsphase während 5 Minuten bei einer Belastungsintensität von 50-100 Watt auf dem Ergometer aufwärmen. Die Belastungsdauer betrug maximal 150 Minuten und war in 5 Einheiten zu je 30 Minuten Dauer aufgeteilt. Die Belastungsintensität wurde bei 60% der individuellen anaeroben Schwelle angesetzt (siehe Abschnitt 3.3.1.5). Nach jeweils 20 Minuten Belastungsdauer wurden Hämatokrit und

Blutdruck in sitzender Position auf dem Fahrrad bestimmt. Das Blutdruckmonitoring erfolgte nach der Methode von Riva-Rocci. In den letzten 5 Minuten einer Belastungsphase wurde den Probanden eine Atemmaske (Viasys Health Care GmbH, Höchberg, Deutschland) vorgehalten und mit Hilfe eines mobilen Spirometrieegerätes (X1, Cortex Biophysik GmbH, Leipzig, Deutschland) die spirometrischen Daten ermittelt. Anhand dieser Daten (VO_2 und $\text{VO}_{2\text{rel}}$) wurde die Belastungsintensität gesteuert. Nach jeder Belastungseinheit erfolgte eine Pause von 2 Minuten. In dieser Zeit wurde die Körpermasse der Probanden bestimmt. Anschließend wurde die nächste Belastungseinheit begonnen.

Nach Beendigung der 150 minütigen Belastungsphase wurden die Probanden unbekleidet und „abgetrocknet“ gewogen. Anschließend erfolgte die Messung der rektalen Körpertemperatur und der Körpermasse. Unmittelbar danach erfolgte die zweite (Dehyd) MR-Messung.

3.3.1.3 Rehydratationsphase

Die Rehydratationsphase begann nach der Dehyd MR-Messung und dauerte 180 Minuten. Um eine komplette Rehydratation zu erreichen, muss mehr Flüssigkeit als verloren wurde aufgenommen werden [90, 138]. Mitchell et al. [98] und Maughan et al. [90] zeigten, dass um eine maximale Rehydrierung zu garantieren, 150% der verlorenen Flüssigkeitsmenge aufgenommen werden muss. Aus diesem Grund mussten die Probanden 150% ihrer verlorenen Körpermasse in Form eines Elektrolytgetränks (Gatorade) zu sich nehmen. Die Probanden durften in dieser Phase Bananen essen. Flüssigkeitszufuhr und Nahrungsaufnahme wurden protokolliert. Nach Abschluss der Rehydratationsphase wurde die Masse der Probanden gemessen. Die Untersuchung endete nach der dritten (Rehyd) MR-Messung.

3.3.1.4 Probanden

Die Rekrutierung der Testpersonen erfolgte über eine Ausschreibung im abteilungseigenen Internetportal. Die Teilnehmer mussten folgende Kriterien erfüllen:

- Radsportspezifisch trainierte gesunde Männer
- Trainingsumfang ≥ 10 h/ Woche
- Alter: 20 - 40 Jahre
- keine Medikation

- Nichtraucher
- keine Metallimplantate im Körper
- keine chronischen oder akuten Infekte
- kein arterieller Hypotonus
- keine psychosoziale und/ oder physiologische Überforderungssituation (z.B. Übertrainingssyndrom) in den letzten 6 Monaten vor dem Untersuchungszeitraum
- keine psychische Erkrankung (aktuell und in der Vergangenheit)

Alle Probanden wurden von einem Arzt auf ihre Sporttauglichkeit untersucht. Die Versuchsteilnehmer wurden im Vorfeld der Untersuchung mit dem Studienverlauf und der Testausstattung vertraut gemacht. Des Weiteren wurden sie in einem Gespräch ausführlich über die Studie informiert und hatten ausreichend Gelegenheit, Fragen zu stellen. Vor Beginn der Untersuchung mussten alle Teilnehmer eine Einverständniserklärung unterschreiben. Die anthropometrischen Daten der Probanden sind der Tabelle 3.3 zu entnehmen.

Tabelle 3.3: Anthropometrische Daten der Probanden (n=14), jeweils Median und untere bzw. obere Quartile.

Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI [kg/m ²]	VO₂rel [ml/min/kg]
26.6 (22.7/29.8)	180 (178/184)	72.8 (69.2/76.5)	22.7 (21.4/24.2)	55.8 (52.3/59.3)

3.3.1.5 Leistungsdiagnostik

Alle Probanden mussten in der Woche vor der Dehydratationsbelastung einen Stufentest auf einem Fahrradergometer absolvieren. Dabei wurden die maximale Sauerstoffaufnahme (VO₂max) und die relative Sauerstoffaufnahme (VO₂rel) als Mass für die kardiorespiratorische Leistungsfähigkeit bestimmt. In den 48 Stunden vor dem Test durften die Probanden kein intensives Ausdauertraining absolvieren. In den folgenden Abschnitten werden die Fahrradergometrie, Spirometrie und die Laktatanalyse beschrieben.

Fahrradergometrie Die Fahrradergometrie wurde auf einem computergesteuerten 800S Fahrradergometer (ErgoLine, Medical Measurement Systems, Binz, Deutschland) durchgeführt. Das Ergometer wurde jeweils auf die Körpergröße des Teilnehmers angepasst.

Das Belastungsprotokoll startete bei einer Belastungsintensität von 0 Watt. Jeweils nach drei Minuten Stufendauer wurde die Belastungsintensität ohne Unterbrechung um 50 Watt gesteigert. Mindestens 60 Pedalumdrehungen pro Minute waren während des ganzen Tests einzuhalten. Während des Test wurde ein 12-Kanal-Belastungs-EKG (EKG-Recorder Quinton, Model Q 710 sx, Serie 00334-165-0107, Quinton Instrument Co., Seattle, Wa., USA) aufgezeichnet.

Am Ende jeder Stufe sowie eine, drei, fünf und zehn Minuten nach Abbruch des Tests wurde Kapillarblut zur Laktatbestimmung am Ohrläppchen entnommen. Nach jeder Stufe wurde das subjektive Belastungsempfinden der Probanden anhand der Borg Skala erfragt. Zusätzlich wurde der Blutdruck nach jeder Belastungsstufe und 5 Minuten nach Abbruch des Tests bestimmt. Die Fahrradergometrie wurde bis zur subjektiven maximalen Erschöpfung der Probanden durchgeführt.

Spirometrie Die spirometrischen Daten (Ventilation, Sauerstoffaufnahme, Kohlendioxidabgabe und die daraus ableitbaren Parameter) wurden mit einem Oxycon Beta (Jaeger bzw. Viasys Health Care GmbH, Höchberg, Deutschland) aufgezeichnet. Nach einer 30-minütigen Phase, bei der die automatische Justierung der Messinstrumente erfolgte, wurde eine Volumen- und Gaskalibration durchgeführt. Die Volumenkalibration erfolgte mit einer zwei Liter Eichpumpe, die Gaskalibration mittels eines verdichteten Eichgases, bestehend aus 15% Sauerstoff, 5% Kohlendioxid und Stickstoff (Eichgas von Messer Griesheim GmbH, Flaschennummer A022941, Krefeld, Deutschland). Aus den Ist-Werten und den Soll-Werten der Kalibrationen wurden Korrekturfaktoren für die Messungen berechnet. Die Umgebungsluft diente als Referenzgas. Die spirometrischen Daten wurden mit Hilfe der Software Lab Manager Version 4.5.2 berechnet.

Den Probanden wurde eine Atemmaske (Viasys Healthcare GmbH, Höchberg, D), die mit dem Tripel V Volumen Sensor verbunden war, aufgesetzt. Die Sauerstoff-Messung erfolgte durch einen O₂-Analysator, der nach dem differential-paramagnetischen Messprinzip funktioniert. Das Kohlendioxid wurde durch einen CO₂-Analysator mittels dem Messprinzip der Infrarotabsorption bestimmt. Die Gaskonzentrationen wurden Atemzug für Atemzug analysiert. Die zur Auswertung benutzten Werte entsprechen der Mittelung der Breath to Breath Werte über 30 Sekunden.

Laktatanalyse Am Ohrläppchen entnommenes Blut diente der Laktatanalyse. Dazu wurde das Ohrläppchen desinfiziert und mit einer sterilen Einweglanzette punktiert. Der erste Blutstropfen wurde verworfen. Anschließend wurde unter leichtem Druck auf das Ohrläppchen das hervortretende Blut in einem 20 μ l Kapillarröhrchen aufgenommen und in 1,5 ml Probegefäße, die mit 1000 μ l Glukose-Pufferlösung gefüllt waren, gegeben. Das Laktat wurde mit dem ECA PD10 (Medingen GmbH, Firmen Gruppe Preiss-Daimler, Dresden, Deutschland) analysiert. Dieses Gerät arbeitet nach dem enzymatischen-amperometrischen Messprinzip. Dabei wird Laktat an einer Membran durch das Enzym Laktatoxidase zu Pyruvat oxidiert. Die so freigesetzten Ladungsträger werden als Messsignal registriert. Die automatische Bestimmung erfolgte zweimal. Der Mittelwert aus beiden Messungen wurde zur Auswertung des Leistungstests herangezogen. Die anaerobe Schwelle wurde nach dem Laktat-Schwellenkonzept von Stegmann und Kindermann bestimmt [143].

3.3.1.6 Blutanalysen

Die Blutanalysen erfolgten durch das Labor 28 (Labor 28 AG, Berlin, Deutschland). Neben Hämoglobin (Hb) und Hämatokrit (Hkt) wurden auch die Elektrolyte Natrium (Na^+), Kalium (K^+), Calcium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}) und Chlorid (Cl^-) sowie die Serumosmolalität (Osm) bestimmt.

Direkt nach jeder NMR-Messung, d.h. nach einer 45 Minuten dauernden Liegephase, wurde den Probanden in liegender Position ohne Stauung eine Vena cubitalis punktiert und Blut entnommen. Dazu wurde eine EDTA-Monovette (2,7 ml) für das Blutbild sowie eine S-Monovette (7,5 ml) (jeweils Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) zur Gewinnung von Plasma abgefüllt.

Hb und Hkt wurden aus EDTA Frischblut, die Elektrolyte und die Osmolalität aus dem Blutserum bestimmt. Zur Serum Gewinnung wurden die Serummonovetten 30 Minuten gelagert und anschließend während 15 Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute in einer EBA 8 Zentrifuge (Zentrifuge EBA 8, A. Hettich, Tuttlingen, Deutschland) zentrifugiert. Danach wurde das Serum mit einer Pipette vom Blutkuchen getrennt und in Serumröhrchen abgefüllt.

Hb und Hkt: Hb und Hkt wurden mit dem hämatologischen Analysensystem ADVIA 120 (Bayer Vital GmbH, Fernwald, Deutschland) bestimmt. Die Hb-Bestimmung erfolgte photometrisch mit Hilfe der Cyanmethämoglobin-Methode. Dabei wurde die Probe in die Hb-Reaktionskammer, die als optische Küvette diente, gegeben. Die Reaktionskammer wurde von einem exakt definierten Lichtstrahl durchleuchtet. Ein

Hb-Kolorimeter mass die Spannungswerte, die der übertragenen Lichtmenge entsprechen. Anhand dieser Werte bestimmte das System die Hb-Konzentration. Der Hkt wurde aus der Anzahl und der Größe der Erythrozyten berechnet. Die Quantifizierung der Erythrozyten erfolgte mit Hilfe eines optischen Zytometers, nachdem die Blutprobe in geeignetem Masse mit Reagenz verdünnt wurde. Die Größe der Erythrozyten wurde mittels Doppelwinkel-Laserstreulicht bestimmt.

Aus den Hb- und Hkt-Werten wurden die relativen Veränderungen des Plasmavolumens (PV) der Probanden berechnet. Die Umrechnung erfolgte nach Dill und Costill [42] nach folgenden Formeln:

$$\begin{aligned} PV_{Euhyd} &= 100 \cdot (1 - Hkt_{Euhyd}) \\ PV_{Dehyd} &= 100 \cdot \left(\frac{Hb_{Euhyd}}{Hb_{Dehyd}} \right) \cdot (1 - Hkt_{Dehyd}) \\ PV_{Rehyd} &= 100 \cdot \left(\frac{Hb_{Euhyd}}{Hb_{Rehyd}} \right) \cdot (1 - Hkt_{Rehyd}) \end{aligned} \quad (3.1)$$

Na⁺, K⁺ und Cl⁻: Die Bestimmung der Elektrolyte Na⁺, K⁺ und Cl⁻ erfolgte auf einem Hitachi 747-400 (Hitachi 747-400, Tokyo, Japan) mittels der Methode der indirekten Potentiometrie. Die Methode beruht auf der Tatsache, dass jede ionenselektive Elektrode eine elektromotorische Kraft hervorruft, die durch eine Formel, die sich auf die Ionenaktivität in der wässrigen Lösung bezieht, ausgedrückt werden kann.

Ca²⁺: Die Bestimmung des Ca²⁺ erfolgte durch einen Farbttest. Ca²⁺ bildet mit o-Kresolphthalein-Komplexon in alkalischer Lösung einen violetten Komplex. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Konzentration.

Mg²⁺: Durch Atomabsorptionsspektrometrie (Atomabsorptionsspektrometer AAS 5 FL, Analytik Jena AG) wurde Mg²⁺ quantifiziert. Die Bestimmung der Konzentration von Mg²⁺ durch Atomabsorption beruht auf der Proportionalität von Konzentration und absorbiertener Strahlung entsprechend dem Lambert Beer'sches Gesetz.

Serumosmolalität: Die Serumosmolalität wurde nach dem Prinzip der Gefrierpunktserniedrigung mit Hilfe eines Osmometers (Roebeling, Berlin, Deutschland) bestimmt. Dabei wurde das Plasma zunächst unterkühlt und danach durch einen Vibrator der Kristallisationsprozess in Gang gesetzt. Während der Kristallisation entsteht Wärme. Die Temperatur der Probe steigt an und erreicht ein Plateau unterhalb des Gefrier-

punktes. Das Temperaturplateau wird danach mit dem Plateau bekannter Standardlösung verglichen.

Die Bestimmung des Hb erfolgte in [mmol/l], des Hkt in [%], der Elektrolyte in [mmol/l] und der Serumosmolalität in [mOsmol/kg].

3.4 Marathonstudie

Ziel der Marathonstudie war es zu untersuchen, ob langandauernde intensive aerobe Belastungen (> 2.5 Stunden) Veränderungen der mittels der ^1H -MRS nachweisbaren zerebralen Metaboliten hervorrufen.

3.4.1 Studiendesign

Die Marathonstudie wurde in zwei Messzeitpunkte unterteilt. Eine ^1H -MRS Messung erfolgte vor dem Marathon (pre), eine zweite Messung direkt im Anschluss an den Marathon (post). Da eine Messung direkt vor dem Lauf aus zeitlichen Gründen nicht möglich war, wurde die Pre-Messung in der Woche vor dem Marathon durchgeführt. Es wurden 6 Probanden am *real*,-Berlin Marathon 2002 und 7 Probanden am *real*,-Berlin Marathon 2003 untersucht. Bei beiden Untersuchungen wurde derselbe Versuchsablauf eingehalten.

3.4.1.1 NMR-Untersuchung

Für die MR-Messung wurde zuerst eine Serie von axial orientierten Schichten angefertigt (T_1 -gewichtete IR-FSE Pulssequenz, Schichtdicke 4mm). In gleicher Weise wurden diese Schichten in der zweiten Messung gescannt und entsprechend zur ersten Messung die Repositionierung für die zweite Messung vorgenommen. Die Positionierung der VOI's wurde durch einen routinierten Radiologen vorgenommen.

Bei jedem Probanden wurden zwei Spektren akquiriert. Das erste Spektrum aus der okzipitoparietalen grauen Substanz und das zweite Spektrum aus der okzipitoparietalen rechten weißen Substanz. Die Größe der VOI's betrug $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$. Bei 7 Probanden wurde zusätzlich in beiden VOI's eine Messung der T_2 -Relaxationszeit durchgeführt. Die zwei Spektren wurden mit PROBE-p ($TR = 6000\text{ms}$, $TE = 30\text{ms}$, $NEX = 64$ Mittelungen) akquiriert.

Die Messung der T_2 -Relaxationszeit des Wassers erfolgte bei 8 festen Echozeiten ($TE = 30, 35, 40, 62, 100, 200, 500, 1500 \text{ ms}$) und einer Repetitionszeit von $TR = 10000\text{ms}$. Das gemessene Signal wurde in Sage fouriertransformiert, 2-fach mit

Nullen aufgefüllt, 2 Hz Gauss gefiltert und phasenkorrigiert. Die gewonnenen Daten wurden biexponentiell nach der Gl 2.15 ausgewertet. Der Atrophieindex wurde mit der Gl 2.16 berechnet.

Eine MR-Messung dauerte etwa 30 Minuten. Direkt nach jeder NMR-Messung wurde das Körpergewicht jedes Probanden ermittelt.

3.4.1.2 Versuchsablauf

In der Woche vor dem *real*,-Berlin Marathon erfolgte die erste MR-Messung (Pre). Die Probanden durften in den 48 Stunden vor der ersten Messung keine intensive Trainingseinheit mehr absolvieren. Vor der ersten Messung wurde das Körpergewicht der Probanden ohne Kleidung auf einer elektronischen Personenwaage (Korona, Modell 1010031, Langgöns-Niederkleen, Deutschland) ermittelt. Danach erfolgte die erste spektroskopische Untersuchung.

Am Tag des Marathonlaufs mussten sich die Probanden vor dem Lauf an einem festgelegten Treffpunkt melden. Nach der Zielankunft wurden die Probanden in einem Auto auf schnellst möglichem Weg zur zweiten Untersuchung ins Virchow-Klinikum gebracht.

3.4.1.3 Probanden

Über eine Ausschreibung auf der Homepage des *real*,-Berlin-Marathons wurden die Probanden rekrutiert. Die Teilnehmer mussten die folgenden Kriterien erfüllen:

- Gesunde männliche Läufer
- Alter: 20 - 40 Jahre
- keine Medikation
- Nichtraucher
- keine Metallimplantate im Körper
- keine chronischen oder akuten Infekte
- kein arterieller Hypotonus
- keine psychosoziale und/ oder physiologische Überforderungssituation (z.B. Übertrainingssyndrom) in den letzten 6 Monaten vor dem Untersuchungszeitraum
- keine psychischen Erkrankungen (aktuell und in der Vergangenheit)

Die Versuchsteilnehmer wurden telefonisch und schriftlich über den Studienablauf informiert und hatten ausreichen Gelegenheit Fragen zum Projekt zu stellen. Vor der ersten Untersuchung mussten die Probanden eine Einverständniserklärung unterschreiben. Die anthropometrischen Daten sind der Tabelle 3.4 zu entnehmen.

Tabelle 3.4: Anthropometrische Daten der Probanden des *real*,-Berlin-Marathons 2002 und 2003 (n=13, Median, 1./3. Quartil).

Alter	Größe	Gewicht	BMI
[Jahre]	[cm]	[kg]	[kg/m ²]
36.2	178	70.4	22.3
(30.2/37.8)	(176/180)	(64.5/75.2)	(21.1/23.9)

3.4.1.4 Blutanalysen

Die Blutanalysen erfolgten durch das Labor des Virchow Klinikums². Es wurden Hämoglobin (Hb) und Hämatokrit (Hkt) bestimmt.

Direkt nach jeder NMR-Messung, d.h. nach einer 30 Minuten dauernden Liegephase, wurde den Probanden in liegender Position ohne Stauung eine Vene cubitalis punktiert und Blut entnommen. Dazu wurde eine EDTA-Monovette (2,7 ml) (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) für das Blutbild abgefüllt.

Hb und Hkt: Hb und Hkt wurden mit dem hämatologischen Analysensystem ADVIA 120 (Bayer Vital GmbH, Fernwald, Deutschland) bestimmt. Die Methoden sind in Abschnitt 3.3.1.6 beschrieben.

Aus den Hb- und Hkt-Werten wurden die relativen Veränderungen des Plasmavolumens (PV) der Probanden berechnet. Die Umrechnung erfolgte nach Dill und Costill [42] nach der Formel 3.1.

²Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie, Campus Virchow-Klinikum, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

3.5 Statistik

Für die statistische Auswertung der gemessenen Daten wurde das kommerziell erhältlichen Programm STATISTICA Version 6.1 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) benutzt.

3.5.1 Reproduzierbarkeitsstudie

Die Ergebnisse der Reproduzierbarkeitsstudie wurden mittels einer ANOVA mit Messwiederholung ausgewertet. Als Maß für die Reproduzierbarkeit wurde die Variabilität jeder Messserie durch den Variationskoeffizienten (CV) für jeden Metaboliten bestimmt. Der CV ist definiert als Quotient aus der Standardabweichung (SD) und dem Mittelwert einer Messserie.

3.5.2 Dehydratationsstudie

Für kleine Stichproben ($n < 20$) ist es kaum möglich nachzuweisen, ob sie aus nichtnormalverteilten Populationen stammen oder nicht. Daher können bei der Verwendung von Verfahren, die eine Normalverteilung voraussetzen, bei kleinen Stichproben verzerrte („biased“) Testergebnisse resultieren. Um dies zu verhindern, erfolgte die statistische Evaluation der Ergebnisse nur mit verteilungsfreien Analysen.

Um Unterschiede einer Stichprobe über einen Zeitverlauf (Euhyd, Dehyd, Rehyd) nachzuweisen, wurde die Rangvarianzanalyse von Friedman (Friedman-ANOVA) angewendet. Der Vergleich zweier abhängiger Stichproben wurde immer mit dem Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurden bei $\alpha = 0.05$ gewählt.

3.5.3 Marathonstudie

Die Ergebnisse der Marathonstudie wurden aus dem selben Grund wie in Abschnitt 3.5.2 beschrieben mit einem verteilungsfreien Verfahren ausgewertet. Dazu wurde der Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben benutzt. Als Signifikanzniveau wurden $\alpha = 0.05$ gewählt.

Kapitel 4

Ergebnisse

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse dieser Arbeit präsentiert. Die Messdaten der Reproduzierbarkeitsstudie waren normalverteilt. Somit werden die Resultate mit Mittelwerten und Standardabweichungen aufgeführt. Die Daten der Dehydratations- und der Marathonstudien wurden mittels Verfahren, die keine Normalverteilung voraussetzen ausgewertet. Diese Ergebnisse werden mit Median und der 1. und 3. Quartile dargestellt.

4.1 Reproduzierbarkeitsstudie

Abbildung 4.1 zeigt ein repräsentatives in LCModel ausgewertetes *in vitro* Spektrum. Dargestellt sind die Rohdaten (dünne Linie) und die von LCModel berechneten Daten (rote Linie) sowie die Differenz (Residuum) zwischen den Rohdaten und den berechneten Daten (im oberen Abschnitt der Grafik). In Tabelle 4.1 und 4.2 sind die Ergebnisse der Reproduzierbarkeitsstudie in relativen Metabolitenkonzentrationen bzw. absoluten Metabolitenkonzentrationen aufgeführt. Die Absolut-Konzentrationen wurden so normiert, dass der Mittelwert von tNAA über alle 40 Spektren dem Wert 12.5 (Konzentration von tNAA im Phantom) entspricht.

Mit Hilfe eines multivariaten Signifikanztests wurde untersucht, ob zwischen den berechneten Konzentrationen und den 8 Messserien ein Zusammenhang besteht. Für die relativen Konzentrationen wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Messserien und den berechneten Konzentrationen entdeckt (Wilks $\lambda=0.35$; Effekt der Serie: $F(28; 105.98)=1.29$, $p=0.18$). Auch für die absoluten Metabolitenkonzentrationen konnte kein Zusammenhang zwischen den Messserien und den berechneten Verhältnissen gezeigt werden (Wilks $\lambda=0.22$; Effekt der Serie: $F(35; 120.2)=1.47$, $p=0.07$).

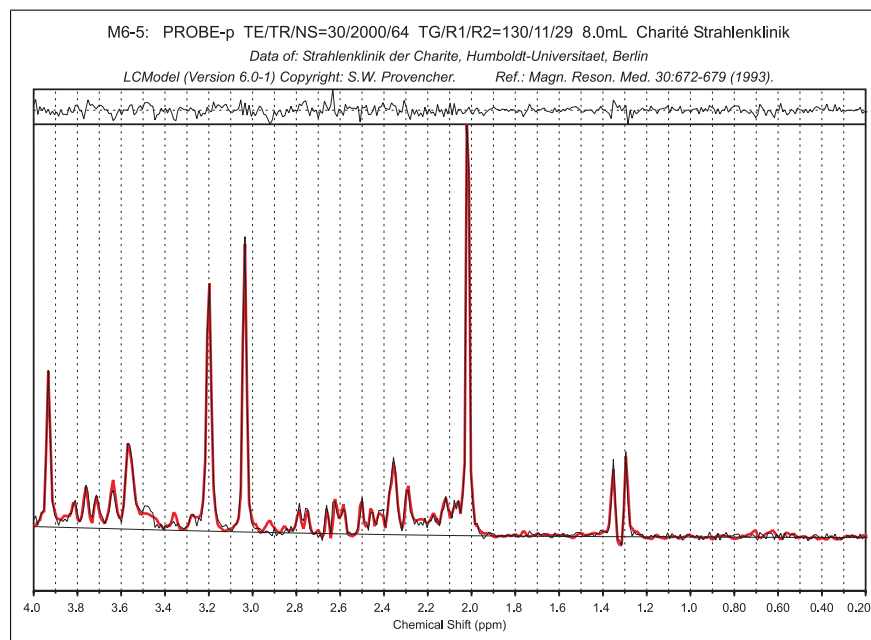


Abbildung 4.1: Spektrum einer repräsentativen in LCModel ausgewerteten Phantommessung. PRESS, TR = 2000 ms, TE = 30 ms, NEX = 64, VOI = 8 ml.

Tabelle 4.1: Relative Metabolitenkonzentrationen (/Cr, Mittelwert, \pm SD) der Phantommessung aller Messserien mit Variationskoeffizienten (CV).

Messung	n	mI/Cr	Cho/Cr	tNAA/Cr	Glx/Cr
M1	5	0.67 ± 0.02	0.35 ± 0.002	1.19 ± 0.01	1.33 ± 0.01
CV[%]		3.3	0.5	1.0	0.5
M2	5	0.64 ± 0.04	0.35 ± 0.005	1.21 ± 0.01	1.35 ± 0.03
CV[%]		5.5	1.3	1.1	2.0
M3	5	0.66 ± 0.02	0.35 ± 0.006	1.20 ± 0.01	1.31 ± 0.01
CV[%]		3.0	1.7	0.8	1.1
M4	5	0.65 ± 0.07	0.35 ± 0.008	1.21 ± 0.01	1.32 ± 0.03
CV[%]		10.1 \pm	2.2	0.9	2.1
M5	5	0.67 ± 0.03	0.34 ± 0.007	1.19 ± 0.02	1.31 ± 0.03
CV[%]		3.9	2.0	1.4	2.4
M6	5	0.67 ± 0.03	0.35 ± 0.002	1.22 ± 0.02	1.30 ± 0.03
CV[%]		4.5	0.7	1.2	2.1
M7	5	0.66 ± 0.03	0.35 ± 0.003	1.21 ± 0.01	1.36 ± 0.09
CV[%]		4.2	0.9	0.7	6.6
M8	5	0.66 ± 0.01	0.35 ± 0.005	1.19 ± 0.01	1.33 ± 0.02
CV[%]		1.9	1.4	1.0	1.4
M1-M8	40	0.66 ± 0.03	0.35 ± 0.005	1.20 ± 0.01	1.33 ± 0.04
CV [%]		4.8	1.4	1.1	3.1

Tabelle 4.2: Absolute Metabolitenkonzentrationen (mmol, Mittelwert, \pm SD) der Phantommessung aller Messserien mit Variationskoeffizient (CV).

Messung	n	Cr	mI	Cho	tNAA	Glx
M1	5	10.5 \pm 0.1	7.0 \pm 0.2	3.6 \pm 0.1	12.6 \pm 0.1	14.0 \pm 0.2
CV [%]		1.3	3.0	1.7	0.8	1.5
M2	5	10.5 \pm 0.1	6.7 \pm 0.3	3.7 \pm 0.1	12.6 \pm 0.2	14.1 \pm 0.4
CV [%]		0.9	5.1	2.2	1.5	2.8
M3	5	10.4 \pm 0.1	6.8 \pm 0.2	3.6 \pm 0.03	12.4 \pm 0.1	13.6 \pm 0.1
CV [%]		0.9	3.2	1.0	1.0	1.0
M4	5	10.4 \pm 0.1	6.8 \pm 0.6	3.6 \pm 0.1	12.6 \pm 0.2	13.8 \pm 0.2
CV [%]		1.0	9.2	2.0	1.3	1.2
M5	5	10.4 \pm 0.2	6.9 \pm 0.3	3.6 \pm 0.03	12.4 \pm 0.1	13.6 \pm 0.3
CV [%]		1.6	4.2	0.8	0.7	1.9
M6	5	10.3 \pm 0.1	6.9 \pm 0.3	3.6 \pm 0.1	12.6 \pm 0.1	13.4 \pm 0.3
CV [%]		1.1	5.0	1.4	0.9	2.4
M7	5	10.4 \pm 0.1	6.9 \pm 0.2	3.6 \pm 0.01	12.5 \pm 0.1	14.2 \pm 0.8
CV [%]		0.9	3.5	0.4	0.7	5.9
M8	5	10.4 \pm 0.1	6.9 \pm 0.2	3.6 \pm 0.1	12.4 \pm 0.1	13.8 \pm 0.1
CV [%]		1.1	2.2	1.8	0.9	0.9
M1-M8	40	10.4 \pm 0.1	6.9 \pm 0.3	3.6 \pm 0.1	12.5 \pm 0.1	13.8 \pm 0.4
CV [%]		1.1	4.6	1.6	1.1	3.1

4.2 Dehydratationsstudie

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse der Dehydratationsstudie präsentiert. Die meisten Parameter wurden vor (Euhyd) und nach (Dehyd) der Dehydratationsbelastung sowie nach einer dreistündigen Rehydratationsphase (Rehyd) gemessen. Wird von einem Zeitverlauf gesprochen, so ist immer vom Vergleich zwischen den Zeitpunkten Euhyd, Dehyd und Rehyd die Rede.

Es durchliefen 14 gesunde männliche Probanden den Versuch. Die Blutparameter, die Körpermasse sowie die Körpertemperatur konnten von allen 14 Probanden ausgewertet werden. Bei der Auswertung der spektroskopischen Daten mussten bei den Datensätzen aus der okzipito parietalen grauen Substanz die Ergebnisse von 2 Probanden ausgeschlossen werden. Bei beiden Probanden wies jeweils eines der drei Spektren (Euhyd-Dehyd-Rehyd) auffällige Abweichungen von den übrigen Messung auf, die auf einen Hardwarefehler bei der Akquisition zurückzuführen waren. Bei den Messwerten

aus der rechten und linken weißen Substanz mussten die Ergebnisse jeweils eines Probanden ausgeschlossen werden, da eines der drei Spektren (Euhyd-Dehyd-Rehyd) auf Grund einer zu grossen Linienbreite (FWHM berechnet von LCModel) von mehr als > 0.07 ppm qualitativ nicht mehr akzeptabel und daher nicht auswertbar war. Somit wurden in der okzipitalen parietalen weißen Substanz rechts und links jeweils 13 Probanden ausgewertet. Die Messung der T_2 -Relaxation zur Bestimmung des Atrophieindex erfolgte bei 9 Probanden.

4.2.1 Blutparameter

Die Blutparameter Hb, Hkt, PV, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , Mg^{2+} und Serumosmolalität (Osm) zeigten alle über die drei Messzeitpunkte signifikante Änderungen ($p < 0.05$). Hb, Hkt, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- und Osm wiesen alle den selben Verlauf auf: die Konzentrationen stiegen von Euhyd zu Dehyd an, und fielen zu Rehyd wieder ab. Mg^{2+} zeigte keine Änderung von Euhyd zu Dehyd. Die Konzentration stieg aber von Dehyd zu Rehyd signifikant ($p < 0.01$) an. Das relative Plasmavolumen (PV) verringerte sich signifikant von Euhyd zu Dehyd und stieg signifikant von Dehyd zu Rehyd wieder an. In Tabelle 4.3 sind die Blutparameter über die drei Zeitpunkte, sowie die Niveaus der Signifikanzen aufgeführt. Abbildung 4.2 und Abbildung 4.3 zeigen den Verlauf aller Blutparameter über die drei Messzeitpunkte.

Tabelle 4.3: Blutparameter Hb, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , Mg^{2+} (mmol/l, Median, 1./3. Quartil), Hkt, PV (%), Osm (mOsmol/kg, Median, 1./3. Quartil) über die drei Messzeitpunkte.

	Euhyd	Dehyd	Rehyd
Hb	8.6 ** (8.2/9.1)	9.2 (8.6/9.5)	8.7 *** (8.2/9.1)
Hkt	40.15 ** (38.9/42.2)	42.45 (40.5/44.7)	40.15 ** (38.1/43.0)
PV	59.85 *** (57.80/61.10)	54.72 (51.94/56.93)	61.82 *** (55.65/64.15)
Na^+	140 ** (139/142)	145 (144/145)	140 ** (139/142)
K^+	4.4 * (4.2/4.4)	4.6 (4.5/5.1)	4.4 * (4.2/4.6)
Ca^{2+}	2.42 ** (2.39/2.55)	2.59 (2.51/2.67)	2.48** (2.37/2.58)
Cl^-	104 (103/107)	106 (105/108)	102 ** (101/104)
Mg^{2+}	0.86 (0.82/0.86)	0.86 (0.78/0.86)	0.90 ** (0.86/0.95)
Osm	284 ** (283/285)	294 (293/297)	285 ** (283/286)

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Dehyd

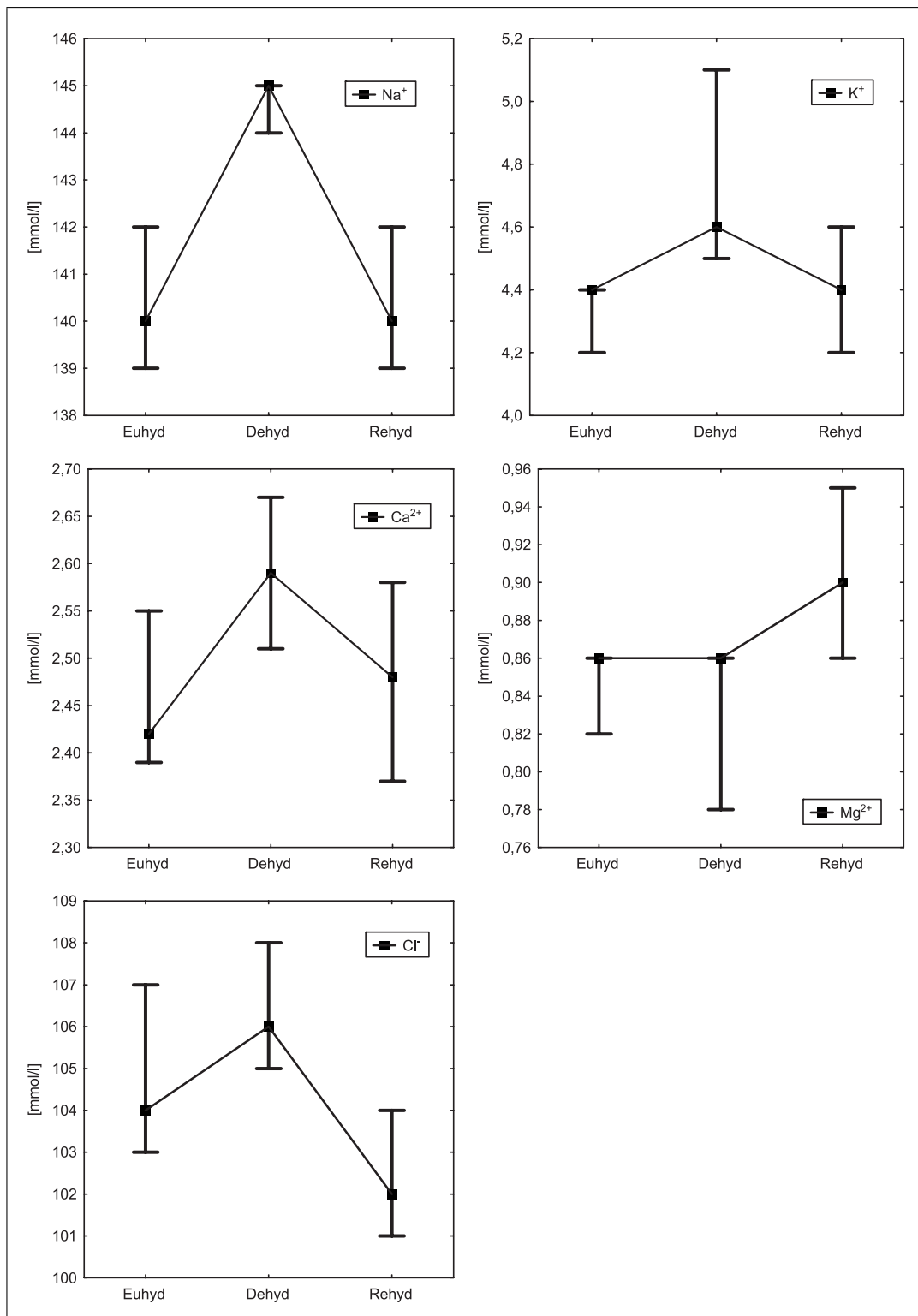


Abbildung 4.2: Verlauf der Elektrolyte (Median, 1./3.Quartil) zu den drei Messzeitpunkten Euhyd, Dehyd und Rehyd.

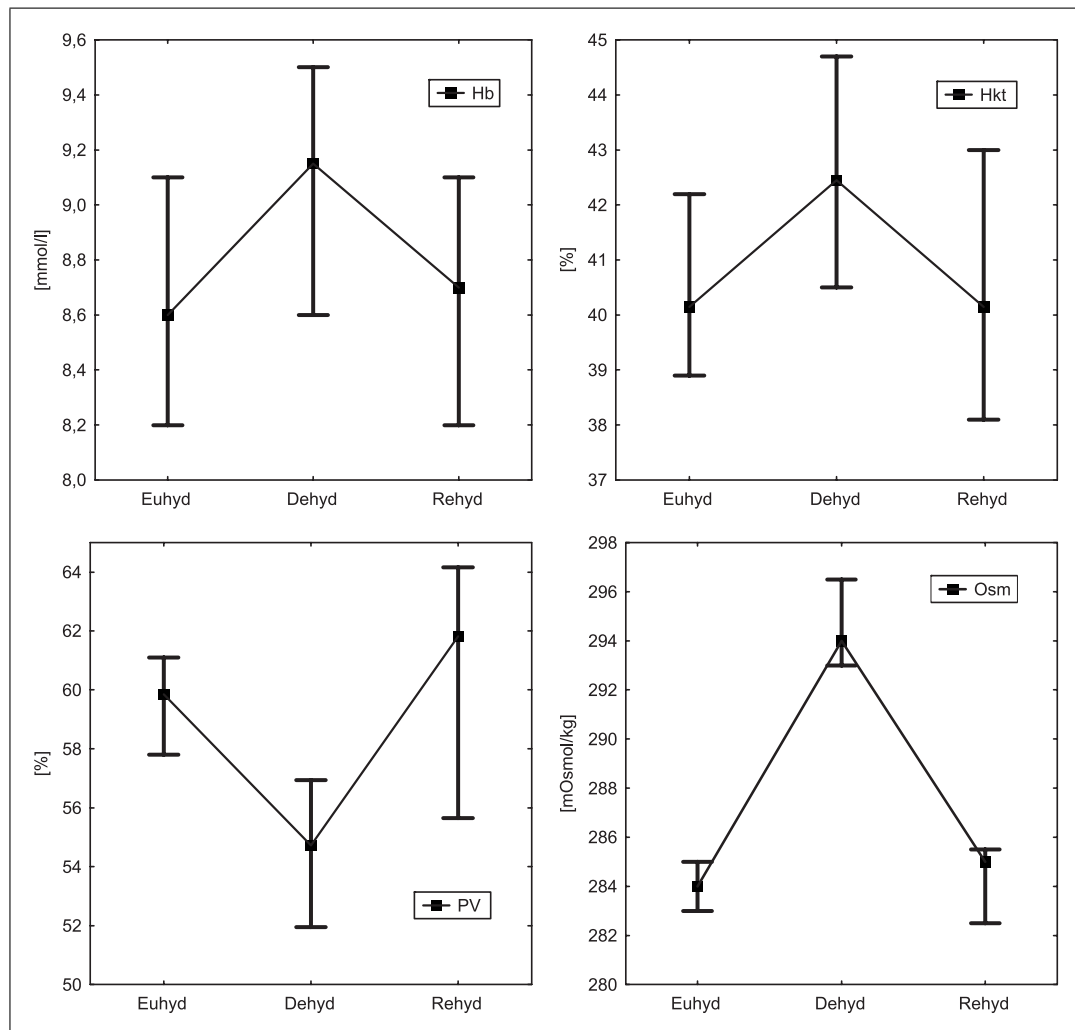


Abbildung 4.3: Verlauf der Blutparameter Hb, Hkt, PV und Osm (Median, 1./3.Quartil) zu den drei Messzeitpunkten Euhyd, Dehyd und Rehyd.

4.2.2 Körpermasse

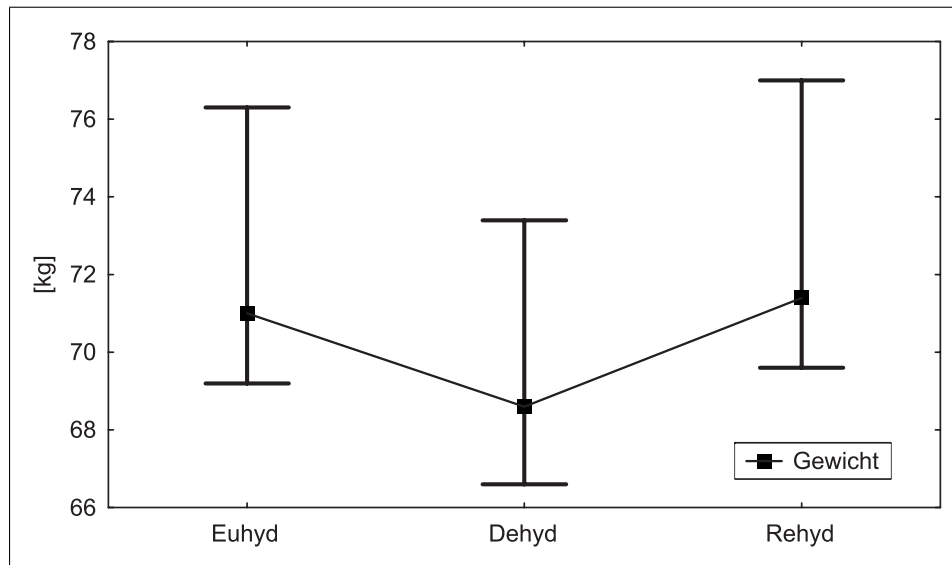


Abbildung 4.4: Die Körpermasse der Probanden änderte sich über die Messreihe signifikant (Friedman-ANOVA, $p < 0.001$).

Die Körpermasse der Probanden veränderte sich über den Verlauf (Abbildung 4.4) signifikant (Friedman-ANOVA, $p < 0.001$). Der Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben zeigte, dass sich alle drei Messzeitpunkte signifikant voneinander unterschieden (Euhyd - Dehyd: $p < 0.001$, Dehyd - Rehyd: $p < 0.001$, Euhyd - Rehyd: $p < 0.01$).

Der Gewichtsverlust von Euhyd zu Dehyd betrug 2.7 (2.4/3.3) kg was einer Dehydratation von 3.7 (3.4/4.1) % entspricht. Die Gewichtszunahme von Dehyd zu Rehyd betrug 3.3 (2.6/4.0) kg was einer Rehydratation von 4.5 (3.7/5.3) % gleichkam. Das Gewicht der Probanden in rehydriertem Zustand war um 0.7 (0.4/0.7) kg im Vergleich zum Ausgangsgewicht erhöht.

4.2.3 Körpertemperatur

Die rektale Körpertemperatur der Probanden vor und nach der Dehydrationsbelastung unterschied sich signifikant ($p < 0.01$). Sie betrug vor der Dehydrationsbelastung 37.2° C (36.7/37.5) und stieg nach der Belastung auf 38.2° C (37.5/38.7) an.

4.2.4 Relative Metabolitkonzentrationen

Abbildung 4.5 zeigt ein repräsentatives *in vivo* Spektrum aus dem okzipitoparietalen Marklager eines jungen gesunden männlichen Erwachsenen (Alter: 31 Jahre). Dargestellt sind die Rohdaten, die von LCModel berechneten Daten aus den Grundspektren sowie das Residuum. Die gleichmäßige Verteilung des Residuums um einen Mittelwert

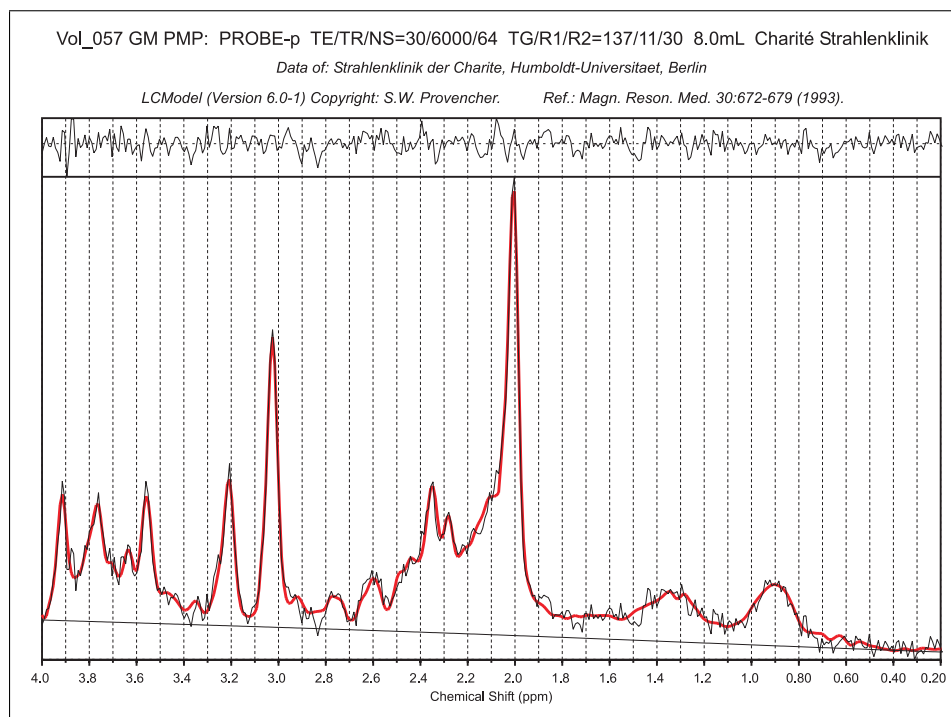


Abbildung 4.5: Ein in LCModel ausgewertetes repräsentatives *in vivo* Spektrum aus dem parietalen Marklager eines jungen gesunden männlichen Probanden. PRESS, TR = 6000 ms, TE = 30 ms, NEX = 64, VOI = 8 ml.

weist darauf hin, dass eine gute Übereinstimmung zwischen den experimentellen und den aus den Grundspektren modellierten Daten besteht und eine qualitativ hochwertige Auswertung vorliegt.

Die relativen Metabolitkonzentrationen von mI, Cho und tNAA in der okzipitoparietalen grauen Substanz veränderten sich über den Verlauf der Messungen nicht. Glx zeigte von Euhyd zu Dehyd einen signifikanten ($p < 0.05$) Anstieg. Die Werte der Metaboliten sind Tabelle 4.4 zu entnehmen.

In der weißen Substanz parietal rechts änderte sich die relativen Konzentrationen keines Metaboliten signifikant. Die Werte sind in Tabelle 4.5 wiedergegeben.

Die relativen Metabolitkonzentrationen in der weißen Substanz parietal links verhielten sich gleich wie in der grauen Substanz. Alle Metaboliten mit Ausnahme von Glx zeigten keinen signifikanten Unterschied über den Verlauf der Messung. Glx zeigte eine signifikante ($p < 0.05$) Zunahme der Konzentration von Euhyd zu Dehyd. Tabelle 4.6 enthält die Werte der Metaboliten der weißen Substanz parietal links.

Tabelle 4.4: Relative Metabolitkonzentrationen (/Cr, Median, 1./3. Quartil, n=12) in der parietalen grauen Substanz.

Metabolit	Euhyd	Dehyd	Rehyd
mI/Cr	0.61 (0.60/0.74)	0.63 (0.57/0.69)	0.65 (0.61/0.74)
Cho/Cr	0.19 (0.18/0.21)	0.20 (0.18/0.21)	0.20 (0.18/0.22)
tNAA/Cr	1.22 (1.16/1.28)	1.19 (1.15/1.34)	1.23 (1.16/1.30)
Glx/Cr	1.79* (1.67/1.91)	1.90 (1.78/2.07)	1.91 (1.84/2.00)

* $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Dehyd

Tabelle 4.5: Relative Metabolitkonzentrationen (/Cr, Median, 1./3. Quartil, n=13) in der weißen Substanz parietal rechts.

Metabolit	Euhyd	Dehyd	Rehyd
mI/Cr	0.79 (0.75/0.89)	0.76 (0.70/0.86)	0.79 (0.72/0.82)
Cho/Cr	0.29 (0.27/0.30)	0.29 (0.27/0.30)	0.29 (0.27/0.32)
tNAA/Cr	1.51 (1.45/1.62)	1.56 (1.49/1.62)	1.58 (1.41/1.66)
Glx/Cr	1.50 (1.35/1.59)	1.57 (1.48/1.65)	1.57 (1.50/1.70)

Tabelle 4.6: Relative Metabolitkonzentrationen (/Cr, Median, 1./3. Quartil, n=13) in der weißen Substanz parietal links.

Metabolit	Euhyd	Dehyd	Rehyd
mI/Cr	0.81 (0.76/0.92)	0.83 (0.77/0.89)	0.81 (0.79/0.84)
Cho/Cr	0.28 (0.27/0.29)	0.31 (0.28/0.32)	0.29 (0.28/0.31)
tNAA/Cr	1.58 (1.49/1.68)	1.57 (1.46/1.68)	1.56 (1.45/1.62)
Glx/Cr	1.45* (1.39/1.62)	1.66 (1.52/1.72)	1.64 (1.33/1.73)

* $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Dehyd

4.2.5 Absolute Metabolitkonzentrationen

In der parietal grauen Substanz stieg die absolute Konzentration von Glx im Vergleich von Euhyd zu Dehyd signifikant ($p < 0.05$) an. Alle anderen Metaboliten zeigten keine signifikanten Änderungen über den Verlauf der Messungen. Tabelle 4.7 fasst die absoluten Metabolitkonzentrationen der grauen Substanz der Probanden zusammen.

Alle absoluten Metabolitkonzentrationen in der weißen Substanz parietal rechts zeigten keine signifikanten Änderungen. Die Werte sind der Tabelle 4.8 zu entnehmen.

In der weißen Substanz parietal links zeigte sich der gleiche Verlauf der absoluten Metabolitkonzentrationen wie in der parietalen grauen Substanz. Glx stieg signifikant ($p < 0.05$) im Vergleich von Euhyd zu Dehyd an, die restlichen Metaboliten zeigten keine signifikanten Änderungen. In Tabelle 4.9 sind die Konzentrationen zusammengefasst.

Um die Fallzahl (n) in der weißen Substanz zu erhöhen, und somit besser abgesicherte statistische Resultate zu erhalten, wurden die Messungen in der weißen Substanz parietal rechts und links zu einer Gruppe zusammengefasst. In dieser Stichprobe ($n=26$) zeigte die absolute Konzentration von Glx wiederum einen signifikanten ($p < 0.05$) Anstieg im Vergleich von Euhyd zu Dehyd. Bei den restlichen Metaboliten konnte keine signifikante Veränderung über den Verlauf der Messung nachgewiesen werden. Die absoluten Metabolitkonzentrationen der weißen Substanz parietal rechts und links sind der Tabelle 4.10 zu entnehmen.

Tabelle 4.7: Absolute Metabolitkonzentrationen (Iu, Median, 1./3. Quartil, $n=12$) in der parietalen grauen Substanz.

Metabolit	Euhyd	Dehyd	Rehyd
Cr	5.7 (5.5/6.0)	5.7 (5.5/6.2)	5.6 (5.4/5.8)
mI	3.6 (3.4/4.2)	3.5 (3.4/4.2)	3.7 (3.4/4.2)
Cho	1.1 (1.0/1.2)	1.1 (1.0/1.2)	1.1 (1.0/1.2)
tNAA	7.0 (6.6/7.5)	7.0 (6.5/7.5)	7.0 (6.5/7.3)
Glx	10.2* (9.4/10.7)	11.3 (10.2/12.0)	11.0 (10.1/11.5)

* $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Dehyd

Tabelle 4.8: Absolute Metabolitkonzentrationen (Iu, Median, 1./3. Quartil, n=13) in der weißen Substanz parietal rechts.

Metabolit	Euhyd	Dehyd	Rehyd
Cr	5.2 (5.0/5.5)	5.4 (5.2/5.5)	5.0 (4.9/5.2)
mI	4.3 (4.1/4.6)	4.2 (3.7/4.3)	4.1 (3.6/4.2)
Cho	1.5 (1.4/1.6)	1.5 (1.4/1.6)	1.4 (1.4/1.6)
tNAA	8.0 (7.8/8.1)	8.5 (7.7/8.6)	7.8 (7.7/8.3)
Glx	7.5 (7.1/8.7)	8.3 (7.9/8.8)	7.8 (7.6/8.7)

Tabelle 4.9: Absolute Metabolitkonzentrationen (Iu, Median, 1./3. Quartil, n=13) in der weißen Substanz parietal links.

Metabolit	Euhyd	Dehyd	Rehyd
Cr	5.1 (4.9/5.4)	5.1 (4.9/5.3)	5.1 (4.9/5.3)
mI	4.3 (3.9/4.7)	4.2 (4.0/4.4)	4.2 (3.9/4.5)
Cho	1.5 (1.4/1.6)	1.5 (1.4/1.6)	1.5 (1.4/1.6)
tNAA	8.2 (7.7/8.6)	8.1 (7.7/8.4)	7.9 (7.7/8.2)
Glx	7.4* (7.0/8.2)	8.4 (7.0/8.2)	7.5 (7.3/8.9)

* $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Dehyd

Tabelle 4.10: Absolute Metabolitkonzentrationen (Iu, Median, 1./3. Quartil, n=26) in der weißen Substanz parietal rechts und links.

Metabolit	Euhyd	Dehyd	Rehyd
Cr	5.2 (5.0/5.5)	5.2 (5.0/5.5)	5.1 (4.9/5.3)
mI	4.3 (3.9/4.6)	4.2 (3.8/4.4)	4.1 (3.7/4.4)
Cho	1.5 (1.4/1.6)	1.5 (1.4/1.6)	1.5 (1.4/1.6)
tNAA	8.1 (7.7/8.4)	8.2 (7.7/8.5)	7.9 (7.7/8.2)
Glx	7.5* (7.0/8.6)	8.4 (7.9/8.9)	7.8 (7.4/8.9)

* $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Dehyd

4.2.6 Atrophieindex

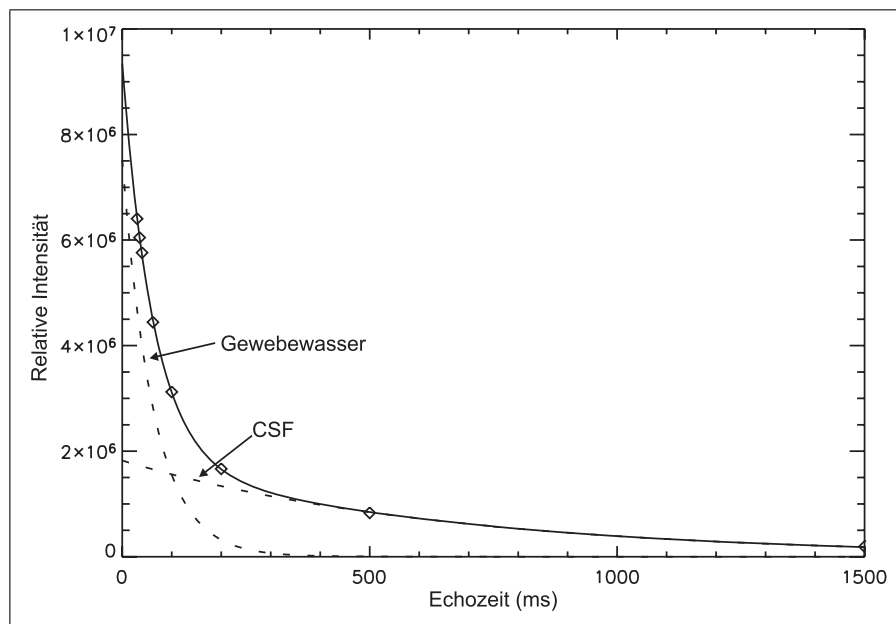


Abbildung 4.6: Biexponentielle T_2 -Relaxation des Wassersignals der parietalen grauen Substanz. Das Signal der CSF und des Hirngewebes können klar getrennt werden.

Abbildung 4.6 zeigt eine biexponentielle T_2 -Relaxation des Wassersignals der okzipitoparietalen grauen Substanz.

Der Atrophieindex α gemessen in der okzipitoparietalen grauen Substanz zeigte keinen signifikanten Abfall im Vergleich von Euhyd zu Dehyd jedoch einen signifikanten Anstieg von Dehyd zu Rehyd.

Die Messungen in der weißen Substanz okzipitoparietal rechts und links wurden zur Erhöhung des Stichprobenumfangs ($n=18$) zusammengefasst. Es wurden die gleichen Ergebnisse wie in der grauen Substanz nachgewiesen. Während sich von Euhyd zu Dehyd keine signifikante Änderung nachweisen ließ, stieg der Atrophieindex von Dehyd zu Rehyd signifikant ($p < 0.05$) an.

Tabelle 4.11: Verlauf des Atrophieindex α (Median, 1./3. Quartil) in der grauen Substanz ($n=9$) und in der weißen Substanz ($n=18$).

	Euhyd	Dehyd	Rehyd
Graue Substanz	0.833 (0.824/0.859)	0.809 (0.784/0.853)	0.861* (0.838/0.896)
Weißer Substanz	0.854 (0.835/0.906)	0.853 (0.767/0.889)	0.867* (0.826/0.927)

* $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Dehyd

4.3 Marathonstudie

Für die Marathonstudie wurden 6 Probanden am *real.*-Berlin Marathon 2002 und 7 Probanden am *real.*-Berlin Marathon 2003 untersucht. Die Blutparameter sowie die Körpermasse wurde von allen Probanden ausgewertet. Um sicher zustellen, dass nur biologische Änderungen und nicht technisch bedingte Fehler die Ergebnisse beeinflussen, wurden Spektren mit einer Linienbreite (FWHM berechnet von LCModel) von mehr als 0.07 ppm von der Auswertung ausgeschlossen. Somit wurden in der okzipito parietalen grauen Substanz 11 Probanden und in der okzipito parietalen weißen Substanz rechts 12 Probanden ausgewertet. Die Messung der T₂-Relaxationszeiten zur Bestimmung des Atrophieindex erfolgte bei den 7 Probanden des Marathons 2003.

Die Laufzeit der Marathonteilnehmer betrug 3:19h (2:59h/3:55h). Das Leistungsgefälle der Probandengruppe war aus messtechnischen Gründen bewusst gross gewählt worden. Die Probanden wurden so rekrutiert, dass sie von ihren angestrebten Laufzeiten immer ca. 30 Minuten auseinander lagen, um längere Wartezeiten vor der zweiten NMR-Messung zu verhindern. Trotzdem vergingen im Schnitt 60 min zwischen der Zielankunft der Läufer und der zweiten NMR-Messung.

4.3.1 Blutparameter

Die Blutparameter Hb, Hkt und PV nahmen alle von Pre zu Post zu. Jedoch nur Hkt und PV änderten sich signifikant ($p < 0.05$).

Tabelle 4.12: Blutparameter Hb (mmol/l, Median, 1./3. Quartil, n=13) und Hkt, PV (% , Median, 1./3. Quartil, n=13) vor und nach dem Marathon.

	Pre	Post
Hb	8.8 (8.4/9.4)	9.1 (8.7/9.5)
Hkt	41* (39/41)	44 (42/45)
PV	59.00* (56.00/61.00)	55.27 (54.62/57.42)

* $p < 0.05$ im Vergleich zur Messung Post

4.3.2 Körpermasse

Die Körpermasse der Probanden erniedrigte sich von Pre zu Post signifikant ($p < 0.05$). Der Verlust betrug 1.4 (0.8/1.7) kg, was einem prozentualen Gewichtsverlust von 1.7 (0.9/2.5)% entsprach.

4.3.3 Relative Metabolitkonzentrationen

Sowohl in der grauen wie auch in der weißen Substanz änderten sich die relativen Metabolitkonzentrationen nicht. In Tabelle 4.13 und Tabelle 4.14 sind die relativen Metabolitkonzentrationen der grauen bzw. der weißen Substanz aufgeführt.

Tabelle 4.13: Relative Metabolitkonzentrationen (/Cr, Median, 1./3. Quartil, n=11) in der parietalen grauen Substanz.

Metabolit	Pre	Post
mI/Cr	0.66 (0.64/0.68)	0.62 (0.60/0.68)
Cho/Cr	0.18 (0.18/0.19)	0.19 (0.17/0.20)
tNAA/Cr	1.18 (1.10/1.32)	1.21 (1.10/1.29)
Glx/Cr	1.67 (1.60/1.84)	1.84 (1.56/1.97)

Tabelle 4.14: Relative Metabolitkonzentrationen (/Cr, Median, 1./3. Quartil, n=12) in der weißen Substanz parietal rechts.

Metabolit	Pre	Post
mI/Cr	0.76 (0.72/0.88)	0.76 (0.59/0.91)
Cho/Cr	0.30 (0.27/0.33)	0.29 (0.28/0.31)
tNAA/Cr	1.67 (1.62/1.79)	1.62 (1.57/1.72)
Glx/Cr	1.50 (1.35/1.59)	1.50 (1.40/1.64)

4.3.4 Absolute Metabolitkonzentrationen

Die absoluten Metabolitkonzentrationen zeigten in der grauen und in der weißen Substanz keine signifikanten Änderungen von Pre zu Post. Die Konzentrationen der Metaboliten der grauen bzw. weißen Substanz sind in Tabelle 4.15 bzw. Tabelle 4.16 zusammengefasst.

4.3.5 Atrophieindex

Der Atrophieindex zeigte sowohl in der grauen Substanz als auch in der weißen Substanz keine signifikanten Änderungen im Vergleich von Pre zu Post. Der Werte sind der Tabelle 4.17 zu entnehmen.

Tabelle 4.15: Absolute Metabolitkonzentrationen (Iu, Median, 1./3. Quartil, n=11) in der parietalen grauen Substanz.

Metabolit	Pre	Post
Cr	5.9 (5.7/6.8)	6.0 (5.9/6.4)
mI	4.0 (3.7/4.3)	3.9 (3.5/4.4)
Cho	1.1 (1.1/1.3)	1.1 (1.0/1.2)
tNAA	7.7 (6.7/8.0)	7.2 (6.7/8.3)
Glx	10.4 (9.7/11.5)	10.5 (9.5/12.5)

Tabelle 4.16: Absolute Metabolitkonzentrationen (Iu, Median, 1./3. Quartil, n=12) in der weißen Substanz parietal rechts.

Metabolit	Pre	Post
Cr	5.2 (4.8/5.4)	5.3 (5.1/5.5)
mI	4.1 (3.8/4.4)	4.0 (3.2/4.5)
Cho	1.5 (1.5/1.7)	1.6 (1.5/1.7)
tNAA	8.9 (8.3/9.5)	8.8 (8.1/9.1)
Glx	7.9 (7.1/8.4)	7.9 (7.4/8.8)

Tabelle 4.17: Verlauf des Atrophieindex α (Median, 1./3. Quartil, n=7) in der grauen Substanz und in der weißen Substanz.

	Pre	Post
Graue Substanz	0.823 (0.626/0.880)	0.784 (0.647/0.896)
Weißer Substanz	0.864 (0.838/0.876)	0.855 (0.823/0.933)

Kapitel 5

Diskussion

Im Prozess der zellulären Osmoregulation haben Osmolyte eine wichtige biologische Funktion. Osmolyte sind osmotisch aktive Metabolite. Steigt die extrazelluläre Osmolarität an, so reichern sich Osmolyte in den Zellen an und verhindern so, dass Wasser aus den Zellen in den Extrazellularraum fließt. Im Gegensatz zu Ionen können sich Osmolyte in hohen Konzentrationen in den Zellen anreichern, ohne die Enzymaktivität und Proteinstruktur der Zellen negativ zu beeinflussen. Osmolyte können in drei Gruppen von biologischen Molekülen unterteilt werden: Polyole (z.B. myo-Inosit), Aminosäuren (z.B. NAA) und Methylamine (z.B. Glycerophosphocholin). Die wichtigsten Osmolyte wie mI, NAA, GPC und Glx können mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie untersucht werden.

Die ^1H -Spektroskopie hat sich in der medizinischen Forschung zu einer Methode entwickelt, mit der *in vivo* biochemische Prozesse in Geweben untersucht werden können. So sind wichtige zerebrale Metabolite für eine quantitative Erfassung mittels der ^1H -MRS zugänglich. Pathologische Veränderungen des Hirnmetabolismus wie sie bei Tumoren, Demenz und Stoffwechselerkrankungen (z.B. M. Canavan) auftreten, können mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie zuverlässig nachgewiesen werden. So wurde unter anderem bei Störungen im Elektrolythaushalt, wie sie z.B. bei chronischen hypo- bzw. hypernatriämischen Zuständen auftreten, mit der ^1H -MRS eine Verschiebung der Osmolytkonzentrationen speziell des *myo*-Inosits, nachgewiesen.

Die bei fortschreitender Dehydratation einsetzenden zentralnervösen Störungen (z.B. visuelle, kognitive, koordinative und emotionale Beeinträchtigungen) lassen jedoch darauf schließen, dass die Funktion des Hirns durch Dehydratation beeinflusst werden könnte. Ob Nervenzellen auch in der Lage sind bei kurzfristig auftretenden Elektrolytverschiebungen, wie sie nach einer durch Schwitzen induzierten Dehydratation entstehen, volumenregulatorische Verbindungen anzureichern, ist nicht bekannt.

In dieser Arbeit wurden vier Fragestellungen im Bezug auf den Hirnstoffwechsel mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie untersucht:

1. Können durch eine Dehydratation in Folge einer körperlichen Belastung Veränderungen von zerebralen Osmolyte resultieren?
2. In welchem Ausmaß stehen diese möglichen Veränderungen im Verhältnis zur verlorenen Flüssigkeitsmenge?
3. Kann eine Flüssigkeitsverschiebung zwischen dem Gewebewasser und der CSF nachgewiesen werden?
4. Können durch langandauernde Belastungen Verschiebungen in den der ^1H -MRS zugänglichen Metaboliten gemessen werden?

Die Resultate der Untersuchungen werden in den folgenden Abschnitten diskutiert.

5.1 Reproduzierbarkeitsstudie

Es existieren einige Studien [18, 54, 78, 101, 135, 139] in Bezug auf die Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit quantitativer Ergebnisse in der ^1H -MRS. Sie alle kommen zum Ergebnis, dass die Reliabilität für die ^1H -Spektroskopie gegeben ist. Auch die Ergebnisse dieser Studie lassen diese Aussage zumindest für die Akquisition von Spektren über einen Tag zu.

Simmons et al. [139] haben ein Phantom über zwei Jahre wöchentlich mit demselben Protokoll gemessen und die Variationskoeffizienten (CV) der relativen Metabolitkonzentrationen berechnet. Schirmer und Auer [135] haben über einen Zeitraum von 13 Monaten zweimal wöchentlich ein Phantom gemessen und haben sowohl für die relativen Metabolitkonzentrationen als auch die absoluten Metabolitkonzentrationen die CVs berechnet. In Tabelle 5.1 und in Tabelle 5.2 sind die Ergebnisse der beiden Studien aufgelistet.

Vergleicht man die Werte der eigenen Studie mit den Ergebnissen aus [135, 139], so ist klar zu erkennen, dass die vorliegende Studie die kleinsten CVs aufweisen kann. Es gibt zwei Begründungen, die diese Werte erklären können. Je länger der Zeitraum dauert, über den Spektren akquiriert werden, desto größere Schwankungen, verursacht durch die Messapparatur, sind zu erwarten. Während Simmons und Schirmer ihre Spektren bei einer Feldstärke von 1.5 Tesla erhoben haben, wurden die Spektren der vorliegenden Studie bei einer Feldstärke von 3 Tesla akquiriert. Eine höhere Feldstärke

hat ein besseres Signal-zu-Rauschverhältnis zur Folge. Somit können Metabolite mit einer größeren Genauigkeit identifiziert werden. Bei mI trifft das allerdings nicht zu, da die Resonanzen von mI bei 1.5 Tesla zu einem sogenannten Pseudo-Singulett zusammenfallen, während das Pseudo-Singulett bei 3 Tesla aufgetrennt wird und so eine Quantifizierung erschwert. Aus diesem Grund nimmt die Genauigkeit bei der Bestimmung von mI bei 3 Tesla gegenüber von 1.5 Tesla nicht im gleichen Ausmaß zu wie bei Cr, Cho und tNAA.

Tabelle 5.1: Variationskoeffizienten (CV) der relativen Metabolitenkonzentrationen aus der Studie von Simmons et al. [139] und Schirmer und Auer [135] im Vergleich zu den in der eigenen Studie berechneten Werten.

Studie	CV					
	TR/TE [ms]	n	mI/Cr	Cho/Cr	tNAA/Cr	Glx/Cr
Simmons et al.	2000/136	?	-	2.2	1.4	-
Schirmer und Auer	1500/30	84	7.4	3.9	2.5	6.0
Eigene Studie	2000/30	40	4.8	1.4	1.1	3.1

Tabelle 5.2: Variationskoeffizienten (CV) der absoluten Metabolitenkonzentrationen aus der Studie von Schirmer und Auer [135] im Vergleich zu den in der eigenen Studie berechneten Werten.

Studie	CV						
	TR/TE	n	Cr	mI	Cho	tNAA	Glx
Schirmer und Auer	1500/30	84	4.0	6.1	3.8	3.3	5.6
Eigene Studie	2000/30	40	1.1	4.6	1.6	1.1	3.1

5.2 Dehydratationsstudie

5.2.1 Blutparameter

In der Dehydratationsstudie wurden die Blutparameter Hämoglobin (Hb), Hämatokrit (Hkt), Serumosmolalität (Osm) sowie die Elektrolyte Natrium (Na^+), Kalium (K^+), Calcium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}) und Chlorid (Cl^-) untersucht. Aus Hb und Hkt wurden die relativen Plasmavolumen (PV) berechnet (siehe Abschnitt 3.3.1.6). Wie in der Literatur beschrieben, hatte die Dehydratation eine Hämokonzentration zur Folge. Die Konzentrationen von Hb, Hkt, (Na^+), K^+ , Ca^{2+} und Cl^- erhöhten sich, Osm

stieg an und das relative Plasmavolumen wurde erniedrigt. Nach der Rehydrationsphase näherten sich diese Werte wieder ihrem Ausgangszustand. Diese Beobachtungen stimmen mit Studien [5, 58, 100, 109, 108, 141], die den Flüssigkeitshaushalt nach De- und Rehydratation untersucht haben, überein. Das relative Plasmavolumen nach der Rehydrationsphase war gegenüber dem Ausgangszustand um 3% erhöht.

5.2.2 Körpermasse

Die Körpermasse (KM) der Probanden wurde durch die Dehydrationsbelastung um 3.7% (3.4/4.1) reduziert. Nose et al. [109] dehydrierten 10 Probanden auf einem Fahrradergometer um 2.3% ihrer KM und konnte nachweisen, dass sich der intrazelluläre und extrazelluläre Flüssigkeitsraum signifikant verringerte.

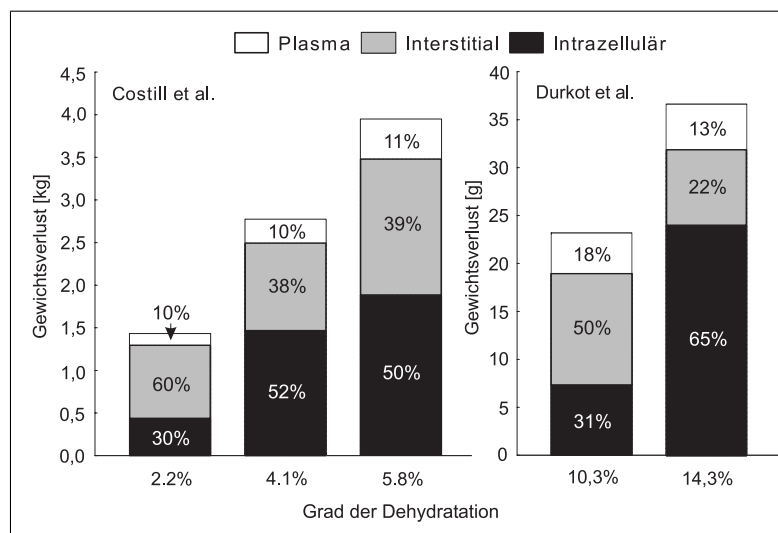


Abbildung 5.1: Flüssigkeitsverlust aus dem Plasma, der interstitiellen Flüssigkeit und der intrazellulären Flüssigkeit (modifiziert aus [130]).

In Abbildung 5.1 sind die Ergebnisse zweier Studien dargestellt. Costill et al. [34] dehydrierten ihre Probanden mit einer Kombination aus Fahrradergometer und Hitzeexposition. Sie bestimmten die Flüssigkeitsverteilung zwischen den Flüssigkeitsräumen bei einem Körpergewichtsverlust von 2.2, 4.1 und 5.8%. Durkot und Martinez [44] dehydrierten Ratten passiv durch Hitzeexposition um 10 bzw 15% ihres Körpergewichtes. Die beiden Studien zeigen, dass je stärker eine Dehydratation fortschreitet, desto mehr Flüssigkeit aus dem Intrazellularraum mobilisiert wird, um das Plasmavolumen zu erhalten.

In der vorliegenden Studie wurde eine um 1.4% höhere Dehydratation erreicht als in der Studie von Nose et al [109]. Berücksichtigt man die Ergebnisse aus der Ab-

bildung 5.1, so kann davon ausgegangen werden, dass sowohl der intra- als auch der extrazelluläre Flüssigkeitsraum beeinflusst wurde.

Die KM nach der Rehydratationsphase war um 1% erhöht im Vergleich zum Anfangswert. Die leicht erhöhte KM wie auch das erhöhte relative PV (siehe Abschnitt 5.2.1) nach Rehydratation gegenüber den Werten in euhydriertem Zustand weisen darauf hin, dass die Probanden im Vergleich zu Ausgangszustand leicht hyperhydriert wurden.

5.2.3 Körpertemperatur

Langandauernde aerobe Belastungen ohne Flüssigkeitsaufnahme sind mit einer Beeinträchtigung der Körpertemperaturregulation verbunden (Abschnitt 2.3.2.1). Bereits eine Dehydratation von 1% der Körpermasse ist mit einer signifikanten Erhöhung der Körpertemperatur verbunden [134]. Das Ausmaß der Temperaturerhöhung reicht von 0.10°C bis 0.23°C für jedes Prozent Körpermassenverlust in Folge von Dehydratation [134].

Die Körpertemperatur unserer Probanden stieg von 37.2°C (36.7/37.5) zu Beginn der Belastung auf 38.2°C (37.5/38.7) nach der Belastung. Der Anstieg dürfte in erster Linie eine Folge der Ausdauerleistung, bzw. des Energieverbrauchs während der Belastung sein. Es ist aber auch denkbar, dass der Dehydratationsgrad zu einer zusätzlichen Erhöhung beigetragen hat. In diesem Versuch wurde aber die Körpertemperatur vor allem für die Überwachung der Probanden aufgezeichnet, um eine Überhitzung und somit eine gesundheitliche Gefährdung auszuschließen.

5.2.4 Absolute und relative Metabolitkonzentrationen

Bevor die Ergebnisse der ^1H -MRS diskutiert werden, soll noch kurz auf die physikalischen Probleme der Spektroskopie bei einer Feldstärke von 3 Tesla eingegangen werden. Im Prinzip hat eine Erhöhung der Feldstärke von 1.5 Tesla auf 3 Tesla eine Verdoppelung des Signal-zu-Rausch Verhältnisses (SNR) zur Folge. In der Spektroskopie kommt zusätzlich eine Verdoppelung der Frequenzdifferenzen der Metaboliten dazu. Somit wird eine doppelte Frequenzauflösung erreicht. Diesen theoretischen Vorteilen stehen aber in der Praxis physikalische Gesetzmäßigkeiten gegenüber, die einer qualitativ hochstehenden Auswertung entgegenwirken.

Eine Erhöhung der Feldstärke bedingt eine Erhöhung der Resonanzfrequenz und somit eine Verkürzung der Wellenlänge. Entspricht die Wellenlänge der Größe des zu untersuchenden Objekts oder ist sogar noch kleiner, so führt das zum dielektrischen

Resonanzeffekt. Dieser Effekt bewirkt eine räumlich abhängige Änderung des Flipwinkels. In der Bildgebung äußert sich das durch eine inhomogene Signalverteilung. Es kommt zur Signalüberhöhung in der Bildmitte, die gegen außen abnimmt.

In der Spektroskopie beeinflusst dieser Effekt das Transmitter Gain (TG). Das TG entspricht der Energie, die benötigt wird, um im zu untersuchenden Objekt die Magnetisierung um 45° zu drehen. Da durch den dielektrischen Effekt eine räumlich abhängige Änderung der Flipwinkel eintritt, kann somit das TG nicht mehr genau bestimmt werden. Das hat wiederum Auswirkungen auf die Datenauswertung mit LCModel. Für die Berechnung der absoluten Konzentrationen, der gemessenen Metaboliten, benutzt LCModel einen Skalierungsfaktor, bei dessen Berechnung das TG mit einfließt [122]:

$$C(TG, R1, R2) = 2^{(6-R1)+(30-R2)} \cdot 10^{0.05 \cdot (TG-65)} \quad (5.1)$$

R1 entspricht dem *Receiver Gain 1* und R2 dem *Receiver Gain 2*. Diese beiden Werte hängen von der verwendeten Spulen ab. Der Formel 5.1 ist zu entnehmen, dass das TG im Exponenten des Algorithmus für den Korrekturfaktor steht und somit eine kleine Änderung des TG bereits einen großen Einfluss auf das Resultat haben kann.

Um dieses Problem zu umgehen, kann LCModel auch einen Korrekturfaktor berechnen, der nicht auf das TG, sondern auf das nicht unterdrückte Wassersignal des zu quantifizierenden Spektrums zurückgreift. Dieser Korrekturfaktor f_{skal} entspricht dem Verhältnis der normalisierten Signalstärke des Basisdatensatzes zum normalisierten nicht unterdrückten Wassersignal der Daten [122]:

$$f_{skal} = \frac{Basis_{norm}}{Wasser_{norm}} \quad (5.2)$$

Wie stark aber das Wassersignal durch die Dehydratationsbelastung im vorliegenden Versuch beeinflusst wird, ist nicht bekannt und kann auch nicht berechnet werden. Nach Rücksprache mit Stephen Provencher, dem Entwickler der LCModel Software, sollte aber die Signalstärke des Wassersignals kaum beeinflusst werden. Er empfahl bei allfälligen signifikanten Veränderungen von absoluten Metabolitkonzentrationen, die Ergebnisse mit den relativen Metabolitkonzentrationen zu vergleichen, um so die Ergebnisse zu verifizieren. Die von LCModel berechneten relativen Metabolitkonzentrationen werden von den soeben beschriebenen, physikalisch bedingten Problemen nicht beeinflusst. Da aber aus physiologischer Sicht absolute Konzentrationen von großem Interesse sind, wurden sowohl die absoluten wie auch die relativen Metabolitkonzentrationen berechnet und ausgewertet.

Die in dieser Studie untersuchten Metaboliten Kreatin (Cr), *myo*-Inosit (mI) und

N-Azetylaspartat zusammen mit N-Azetylaspartylglutamat (tNAA) zeigten in der okzipitoparietalen grauen Substanz und in der okzipitoparietalen weißen Substanz rechts und links über den Untersuchungsverlauf sowohl in den absoluten Metabolitkonzentrationen als auch in den relativen Metabolitkonzentrationen keine signifikanten Änderungen. Glutamin und Glutamat (Glx) sind in der okzipitoparietalen grauen Substanz und in der okzipitoparietalen weißen Substanz links sowohl in den absoluten als auch in den relativen Konzentrationen nach der Dehydrationsbelastung signifikant angestiegen. In der okzipitoparietalen weißen Substanz rechts konnte auch ein Anstieg von Glx, der aber nicht signifikant war, beobachtet werden. Im folgenden Abschnitt sollen diese Ergebnisse anhand von aktuellen Studien diskutiert werden.

Meines Wissens nach existieren keine Studien, die die Auswirkungen von Dehydration, induziert durch lange andauernde aerobe Belastungen, im Hirn am Menschen untersuchen. Da bei Dehydration durch körperliche Belastung eine Hämokonzentration und somit eine Hyperosmolalität des Blutserums eintritt, können die Ergebnisse aber auch mit Studien zur Untersuchung von Hyper- bzw. Hypoosmolalität (Hyper- bzw. Hyponatriämie) verglichen werden.

Hyperosmolalität bzw. Hypernatriämie resultieren in der Regel aus dem Verlust von hypotoner Körperflüssigkeit. Wird der Flüssigkeitsverlust nicht durch genügend Wasseraufnahme kompensiert, so kommt es zur Störung der Homöostase der Körperflüssigkeiten. Hyperosmolalität kann aber auch durch die übermäßige Aufnahme von NaCl entstehen. Auch als Begleiterscheinung von verschiedenen Krankheitsverläufen, die vor allem Kinder und ältere Menschen betreffen, können hyperosmolare Zustände eintreten [2, 72]. Die neurologischen Symptome, die bei Hyperosmolalität in Erscheinung treten, sind die Folge einer zellulären Dehydration, die durch den osmotischen Shift von Wasser aus dem Intrazellularraum in den hypertonen Extrazellularraum resultiert. Die Ausprägungen der Symptome sind mit der Schwere der Hyperosmolalität sowie der Geschwindigkeit, mit der sie eintritt, verbunden und sind eine Konsequenz von neurologischen Dysfunktionen. Die Symptome reichen von Verwirrtheit, Unruhe, Gleichgültigkeit, Muskelzucken, Hyperreflexie, Spasmen, was in schwereren Fällen bis zum Koma und schließlich zum Tode führen kann [2]. Die Geschwindigkeit der Akkumulation sowie des Abbaus von idiogenen Osmolyten *in vivo* im Hirn des Menschen ist nicht genau bekannt [83].

Da Zellmembranen stärker permeabel für Wasser als für Elektrolyte sind, hat ein schneller Anstieg der Plasmaosmolalität eine Zellschrumpfung zur Folge. Das Hirn hat die Fähigkeit, sich an hyperosmolare Zustände durch die schnelle Akkumulation von anorganischen Ionen sowie durch die etwas langsamere Akkumulation von organischen

Osmolyten, anzupassen und so das Volumen der Zellen wieder herzustellen [91, 92, 144, 146]. In der Literatur wird zwischen akuter und chronischer Hyperosmolalität unterschieden, da die Adaptationsprozesse des Hirns an diese Zustände zeitabhängig sind.

Akute Hyperosmolalität wurde in der Vergangenheit hauptsächlich am Tiermodell untersucht. Während Studien zu Untersuchungen der Volumenregulation des Hirns bei akuten hyperosmolaren Zuständen eine Zunahme der Elektrolytkonzentrationen zur Erhaltung des Volumens nachweisen konnten, wurde ein solcher Anstieg bei den Osmolyten nicht beobachtet [27, 85, 115]. Bei chronischer Hyperosmolalität hingegen konnte eine Erhöhung der Osmolytkonzentration gemessen werden [27, 115, 85]. Diese Ergebnisse decken sich auch mit den Beobachtungen, dass der Wassergehalt des Hirns bei akuter Hyperosmolalität reduziert wird und bei chronischer Hyperosmolalität langsam wieder auf den normalen Spiegel ansteigt [71, 85, 86]. Diese Wiederherstellung des Hirnwassergehalts kommt nicht durch einen weiteren Anstieg der Elektrolyte zustande sondern durch die Akkumulation von Osmolyten. Im Hirn werden 30-50% des Hirnwassers durch die osmotisch aktiven Osmolyte im Hirn gebunden, ohne nachteilige Auswirkungen auf die Funktionen der Zellen.

Untersuchungen am Tiermodell zeigten, dass bei einer akuten Hyperosmolalität keine Änderungen der Osmolytkonzentrationen nachweisbar sind. Lien et al. [85] injizierten Ratten intraperitoneal 0.8 ml/100 g Körpergewicht einer 4 M NaCl-Lösung. Nach zwei Stunden zeigten die Ratten eine akute Hypernatriämie. Dennoch konnte mittels ^1H -Spektroskopie kein Anstieg von Osmolyten gemessen werden. Einer zweiten Gruppe von Versuchstieren wurde über 7 Tagen zweimal täglich 1 ml/ 100 g Körpergewicht einer 5% NaCl-Lösung verabreicht und so eine chronische Hypernatriämie bei den Tieren provoziert. Bei diesen Tieren konnte ein signifikanter Anstieg der Osmolyte im Hirn nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse liefert die Studie von Pollock und Arieff [115]. Sie konnten zeigen, dass sich Osmolyte im Hirn von chronischen hypernatriämischen, jedoch nicht bei akuten hypernatriämischen Hasen nachweisen lassen. Auch Heilig et al. [66] konnten zeigen, dass bei Ratten, bei denen über drei Tagen eine Hyperosmolalität induziert wurde, alle nachweisbaren Osmolyte signifikant anstiegen.

Die Ergebnisse der Dehydratationsstudie decken sich größtenteils mit diesen Resultaten. Es konnte sowohl in der grauen als auch in der weißen Substanz kein Anstieg der Osmolytkonzentrationen von mI, tNAA, Cho und Cr bei akuter Dehydratation gemessen werden. Im Gegensatz zu den zitierten Studien, die bei akuter Hyperosmolalität bei keinem Osmolyten einen Anstieg messen konnten, wurde aber in unserer Studie ein signifikanter Anstieg von Glx beobachtet. Eine mögliche Erklärung für den Glx-Anstieg

kann in der Studie von Verbalis und Gullans [148], die den Adaptationsprozess bei der Korrektur von Hypoosmolalität untersuchten, gefunden werden.

Das Hirn reagiert auf eine Hyponatriämie durch die schnelle Abgabe von gelösten Stoffen, die osmotisch aktiv sind. Dabei werden sowohl Elektrolyte als auch Osmolyte abgegeben, was eine effiziente Volumenregulation zulässt. Während nach der Korrektur einer Hyponatriämie die Elektrolyte innerhalb kurzer Zeit wieder auf ihr Ausgangsniveau ansteigen, dauert die Akkumulation von Osmolyten mehrere Tage [84, 148]. Dieser langsame Prozess der Reakkumulation von Osmolyten verläuft analog zum Anstieg von Osmolyten bei Hypernatriämie und zeigt, dass das Hirn im Allgemeinen besser organische Osmolyte abgeben als akkumulieren kann.

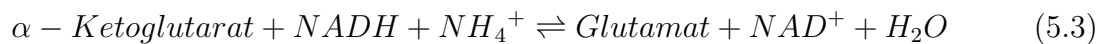
Verbalis und Gullans [148] zeigten, dass nach der schnellen Korrektur einer Hyponatriämie ein signifikanter Anstieg von Glutamat um 75%, im Gegensatz zu den restlichen Osmolyten, schon innerhalb von 24 Stunden im Hirn nachgewiesen werden kann. Gleichzeitig konnten sie aber auch eine Reduktion der Glutaminkonzentration messen. Sie erklärten diesen gegenteiligen Verlauf mit der Verknüpfung der beiden Aminosäuren in der Synthese von Glutamat, da es Hinweise darauf gibt, dass der Hauptanteil des durch einen Depolarisationsstimulus an den Synapsen freigesetzten Glutamates aus der Umwandlung von Glutamin zu Glutamat via mitochondrialer Glutaminaseaktivität erfolgt [15]. Diese Theorie kann aber nicht den gesamten Anstieg von Glutamat erklären, da nur etwa 13% des Glutamatanstiegs aus dem Abbau von Glutamin erfolgt sein kann. Eine weitere Erklärung für den Anstieg von Glutamat konnten Verbalis und Gullans nicht liefern.

Es ist also möglich, dass nach einer schnellen Erhöhung der Serumosmolalität auch ein schneller Anstieg von Glutamat beobachtet werden kann. Die Studie von Verbalis und Gullans [148] kann durchaus mit der Dehydratationsstudie verglichen werden. Zwar erfolgte in unserer Studie keine Korrektur einer Hypoosmolalität im eigentlichen Sinne, dennoch kann man davon ausgehen, dass es sich um einen ähnlichen Prozess handelte. Die Serumosmolalität der Probanden lag zu Beginn der Dehydratationsphase bei 284 (283/285) mosm/kg, was knapp über dem pathologischen Grenzwert von 280 mosm/kg liegt. Nach der Dehydratationsphase betrug die Serumosmolalität der Probanden 294 (293/297) mosm/kg, was wiederum knapp unter dem pathologischen oberen Grenzwert von 300 mosm/kg liegt. Die Probanden wurden also durch die Dehydratationsbelastung von einem Zustand mit sehr tiefer Serumosmolalität in einen Zustand mit hoher Serumosmolalität gebracht. Dies entspricht demselben Verlauf wie in der Studie von Verbalis und Gullans.

Dennoch muss auch noch nach anderen möglichen Ursachen gesucht werden, da die Art und Weise, mit der in den beiden Studien die Serumosmolalität erhöht wurde, nicht vergleichbar ist.

Wie in Abschnitt 2.3.5 beschrieben, wird vermutet, dass eine erhöhte Ammoniakkonzentration im Hirn in einem Anstieg des Gln-Levels und in einer Reduktion der Glu-Konzentration resultiert.

Guezennec et al. untersuchten diese Theorie am Tiermodell [62]. Sie ließen die Tiere bis zur Erschöpfung laufen und untersuchten danach die Konzentration von Glutamin und Glutamat im Hirn. Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass die Konzentration von Glutamin im Hirn (Striatum, Cortex und Cerebellum) der Tiere signifikant anstieg (30-75%), wohingegen die Konzentration von Glutamat nur leicht abnahm. Die nur leichte Reduktion von Glu kann damit begründet werden, dass solange die Energiespeicher der Zellen noch nicht völlig aufgebraucht sind, Glutamat nicht nur über die Resynthese von Glutamin, sondern auch über den Citratzyklus aus α -Ketoglutarat synthetisiert wird.



Dieser Verlauf konnte *in vivo* im Menschen noch nicht verifiziert werden.

Nybo et al. [111] untersuchten die zerebrale Akkumulation von Ammoniak bei 8 männlichen Probanden im CSF während einer dreistündigen Belastung auf dem Fahrradergometer. Sie konnten einen signifikanten Anstieg der Ammoniakkonzentration im CSF nachweisen. Die Glutaminkonzentration in der CSF ist nach der Belastung ebenfalls angestiegen. Dieser Anstieg war jedoch nicht signifikant.

Die Resultate der Dehydratationsstudie stehen im Einklang mit den Ergebnissen von Guezennec et al. [62] und Nybo et al. [111]. Der Anstieg von Glx war in der weißen Substanz größer als in der grauen Substanz. Die Messung der grauen Substanz erfolgte über beide Hirnhemisphären und beinhaltete somit auch mehr CSF als die Messung der weißen Substanz, die nur wenig CSF enthielt. Wie in Nybo et al. beschrieben erfolgt in der CSF nur ein schwacher Anstieg der Glutaminkonzentration. Somit musste in unserer Messung der weißen Substanz ein größerer Anstieg von Glx erfolgen, was auch der Fall war.

In der Dehydratationsstudie betrugen die prozentualen Änderungen der Absolutkonzentrationen von Glx 11% in der grauen bzw. 14% in der weißen Substanz. Die Größenordnung der Änderung der absoluten Konzentrationen muss kritisch betrachtet werden. Studien [6, 54, 78, 101] zur Wiederholbarkeit der ^1H -MRS zeigten, dass die Reliabilität bei kurzen Echozeiten ($\text{TE} = 30\text{ms}$) und langen Relaxationszeiten ($\text{TR} = 5000\text{ms}$) gegeben ist. Geurts et al. [54] berechneten bei 1.5 Tella für Glu in der grauen

Substanz einen Variationskoeffizienten (CV) von 9%. Mullins et al. [101] bestimmten bei 1.5 Tesla für Glx in der weißen Substanz einen CV von 15%. Bartha et al. [6] zeigten, dass beim Vergleich der Messgenauigkeit zwischen einem 1.5 Tesla und einem 4 Tesla MRT-Gerät die Konzentrationsbestimmungen der Metabolite, auf Grund der besseren Spektralauflösung, deutlich besser werden. Beim Vergleich des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses und der spektralen Auflösung zwischen einem 1.5 Tesla und einem 3.0 Tesla MRT-Gerät zeigte sich eine Signalzunahme von 23-46% [55].

Die Spektren in der Dehydratationsstudie wurden mit einer kurzen Echozeit ($TE = 30\text{ms}$) und mit einer langen Repetitionszeit ($TR = 6000\text{ms}$) bei einer Feldstärke von 3 Tesla akquiriert. Aus diesem Grund ist davon auszugehen, dass die Konzentrationsänderungen, die gemessen wurden, über der Nachweisgrenze liegen und somit eine physiologisch relevante Änderung gemessen wurde.

Da Glutamat und Glutamin als Summe ausgewertet wurden, kann nicht gesagt werden, ob der Anstieg von Glx eine Folge der Osmolytakkumulation oder des Ammoniakabbaus war. Es wäre auch denkbar, dass der Anstieg des Glutamins durch die Deaminierung des Ammoniaks auch gleichzeitig zur Steigerung der intrazellulären Osmolalität beiträgt und somit ein Ausfließen von Wasser aus dem Hirngewebe verhindert.

5.2.5 Atrophieindex

Bei einer sehr schnellen Änderung der Serumosmolalität ist das Hirn nicht in der Lage, seinen Wassergehalt zu regulieren. Die klinische Erfahrung zeigt, dass es bei einer akuten Hypernatriämie zur Ruptur von Blutgefäßen, die das Hirn mit dem rigiden Calvarium verbinden, kommen kann [91]. Auch die Tatsache, dass eine zu rasche Korrektur eines hyperosmolaren Zustands zu zerebralen Ödemen führt, bestätigt diese Erfahrung [83].

Wie in Abschnitt 2.3.4 beschrieben, resultiert eine schnell induzierte Hyperosmolalität in einem starken Flüssigkeitsverlust für das Hirn. Somit dürfte es auch zu einer Verschiebung des Verhältnisses zwischen Gewebewasser und CSF kommen. Eine solche Flüssigkeitsverschiebung müsste mittels der Messung des Atrophieindex α nachweisbar sein.

Die Messungen des Atrophieindex in der grauen bzw. weißen Substanz ergaben keine signifikanten Änderungen von Euhyd zu Dehyd. Zwischen den Messungen Dehyd und Rehyd konnte eine signifikante Änderung des Atrophieindex von 6% bzw. 2% in der grauen bzw. weißen Substanz gemessen werden. Ernst et al. haben den Algorithmus zur Berechnung des Atrophieindex entwickelt [46]. Sie haben bei 10 jungen Probanden (22 bis 34 J) den Atrophieindex im okzipitalen Kortex und in der parietalen weißen Sub-

stanz bestimmt. Der Variationskoeffizient (CV) betrug für die graue Substanz 30% und für die weiße Substanz 28%. Die signifikanten Änderungen der Dehydratationsstudie liegen weit unter diesen Werten und sind mit großer Wahrscheinlichkeit rein zufällig entstanden. Aus diesem Grund werden diese Änderungen nicht interpretiert. In der Methodenkritik (Abschnitt 5.4) wird nochmals auf den Atrophieindex eingegangen.

5.2.6 Zusammenfassung

In der Dehydratationsstudie durchliefen 14 männliche Probanden den Versuch. Die Dehydratationsbelastung induzierte eine Hämokonzentration und die Rehydrierung eine Hämodilution. Entsprechend wurde die Blutserumosmolalität zuerst signifikant erhöht und danach wieder signifikant erniedrigt. Die Blutparameter (Hb, Hkt, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , Osm), das Körpergewicht und die Körpertemperatur verhielten sich wie in der Literatur beschrieben [5, 58, 100, 108, 109, 141].

Die spektroskopischen Messungen erfolgten in der okzipitoparietalen grauen Substanz und in der parietalen weißen Substanz links und rechts. Der Verlauf der Osmolyte (mI, Cr, Cho, tNAA) zeigte keine signifikanten Änderungen zwischen den drei Messungen. Dieses Ergebnis stimmt überein mit Studien zu Untersuchungen bei akuter Hyperosmolalität [27, 85, 115]. Die Konzentration des Osmolyten Glx (Glutamat & Glutamin) erhöhte sich nach der Dehydratationsbelastung signifikant. Eine mögliche Erklärung für diesen Anstieg liefert die Studie von Verbalis und Gullans [148], die einen Anstieg von 75% der Glutamatkonzentration nach einer schnellen Korrektur einer Hyponatriämie messen konnten. Eine andere Begründung liefert die Studie von Guezennec et al. [62]. Sie zeigte einen Anstieg von Glutamin im Hirn von Ratten, die bis zur Erschöpfung laufen mussten. Es wurde vermutet, dass das die Folge des Ammoniakabbaus im Hirn sei.

Der Atrophieindex zeigte von Euhyd zu Dehyd keine Änderung. Von Dehyd zu Rehyd nahm der Wert sowohl in der grauen als auch in der weißen Substanz signifikant zu. Der prozentuale Anstieg lag aber weit unter der Messgenauigkeit der Atrophiemessung und dürfte somit rein zufällig entstanden sein. Somit konnte keine Flüssigkeitsverschiebung zwischen dem Gewebewasser und der CSF nachgewiesen werden.

5.3 Marathonstudie

5.3.1 Blutparameter und Körpermasse

Die Blutparameter Hämoglobin (Hb) und Hämatokrit (Hkt) sowie die Körpermasse veränderten sich signifikant von Pre zu Post. Somit kann gesagt werden, dass die Probanden, obwohl sie während des Marathons freien Zugang zu Getränken hatten, dehydrierten. Dabei muss allerdings erwähnt werden, dass es eine grosse Streuung der Werte zwischen den Probanden gab. So betrug der größte Massenverlust, der von einem Probanden erreicht wurde 3%, während zwei Läufer keinen Massenverlust zu verzeichnen hatten. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass zwar eine Dehydratation (1.7%) der Probanden erfolgte, die aber im Ausmaß geringer ausfiel als in der Dehydratationsstudie.

5.3.2 Absolute und relative Metabolitkonzentrationen

Die Ergebnisse der ^1H -Spektroskopie zeigten sowohl in den absoluten Metabolitkonzentrationen als auch bei relativen Metabolitkonzentrationen keine signifikanten Änderungen der Osmolyte mI, Cr, Cho, tNAA und Glx.

Obwohl die Belastungsdauer 3:19h (2:59h/3:55h) betrug und somit deutlich länger als bei der Dehydratationsbelastung war, konnte kein Glx-Anstieg beobachtet werden. Diese Ergebnisse widersprechen der Studie von Guezennec et al. [62], die Ratten bis zur Erschöpfung laufen ließen und einen signifikanten Glutaminanstieg von 30-75% im Hirn nachweisen konnten. Eine Erklärung dafür dürfte die lange Zeitdauer von 60 min zwischen Zielankunft und der zweiten NMR-Messung liefern. Guezennec et al. untersuchten die Tiere direkt nach der Belastungsphase. Wie lange eine Glutaminakkumulation im Hirn nach Belastung anhält, ist nicht bekannt. Glutamin wird, um den Stickstoffgehalt des Hirns zu reduzieren, über die Blut-Hirn-Schranke ins Blut abgegeben [61]. Die Ammoniakkonzentration im Plasma wird durch den Abbau in der Leber reduziert. Aus diesem Grund ist zu erwarten, dass auch die Konzentration des Ammoniaks im Hirn nach Belastung rasch wieder abnimmt und somit auch die Konzentration des Glutamins.

5.3.3 Atrophieindex

Es konnte keine Veränderung des Atrophieindex von Pre zu Post nachgewiesen werden. Deshalb muss davon ausgegangen werden, dass es keine Flüssigkeitsverschiebung zwischen dem Gewebewasser des Hirns und der CSF gab. Die Dehydratation von 1.7

(0.9/2.5)% war zu gering um einen Flüssigkeitsshift im Hirn zu erzeugen. Dies verwundert auch nicht, da auch bei einer Dehydratation von 3.7 (3.4/4.0)%, wie sie bei der Dehydratationsstudie erreicht wurde, keine Flüssigkeitsverschiebung im Hirn beobachtet werden konnte.

5.4 Methodenkritik

Die ^1H -Spektroskopie hat sich in den letzten 10 Jahren in der radiologischen Diagnostik etabliert. Mit ihr können pathologische Stoffwechselprozesse im Hirn untersucht werden. Obwohl die Auflösung der Spektren und somit die Reliabilität der Messungen stetig verbessert wurden, werden die beiden Studien durch die erreichbare Signalstärke bzw. Nachweisgrenze der Spektroskopie gegenüber Konzentrationsänderungen limitiert. Beim heutigen Stand der Technik müssen je nach Metabolit Konzentrationsänderungen der untersuchten Metaboliten von mindestens 5-20% (Cho 5%, NAA 10%, Ins 20%) vorliegen, damit sie eindeutig mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie nachgewiesen werden können. Dieser Wert ist zu hoch, um definitive Aussagen über die Auswirkung von langandauernden aeroben Belastungen und Dehydratation auf das Hirn treffen zu können. Es ist denkbar, dass eine verbesserte Signalausbeute der Spektren (z.B. bei 7.0 Tesla) andere Erkenntnisse über die Auswirkungen von Dehydratation auf das Hirn liefern könnte.

Eine weitere Limitation der ^1H -Spektroskopie betrifft die Messung des Atrophieindex. Die Ergebnisse zeigen, dass auch hier eine Verbesserung der Messsequenz wünschenswert wäre. Denkbar wäre hier die Erhöhung der Anzahl der Echozeiten, um eine kleinere Varianz der T_2 -Zeitmessung der CSF zu erzielen und dadurch eine bessere Reliabilität des Atrophieindex zu erhalten.

Innerhalb der Belastungsdauer von 2.5 Stunden konnte mit einer Belastungsintensität von 60% der maximalen Belastungsintensität der Probanden ein Dehydratationsgrad von 3.7 (3.4/4.1)% erreicht werden. Dieser Wert lag unter dem angestrebten maximalen Wert von 5%. Es hat sich jedoch herausgestellt, dass eine längere Belastung nur von wenigen Probanden toleriert worden wäre. Auch eine höhere Belastungsintensität hätten nur wenige Athleten über 2.5 Stunden durchgehalten. Mit strengeren Kriterien (z.B. $\text{VO}_{2\text{rel}} > 60 \text{ ml/min/kg}$) bei der Auswahl der Probanden hätte die Belastungsdauer erhöht und somit ein höherer Dehydratationsgrad erzielt werden können.

Ein Problem der Marathonstudie ist sicherlich die Tatsache, dass die Belastung der Probanden unter nicht standardisierten Bedingungen erfolgte. Die Belastungsintensität der Probanden konnte nur grob abgeschätzt werden. Ein zusätzlicher Punkt, den es

bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen gilt, ist die lange Zeitdauer zwischen dem Abbruch der Belastung und der zweiten Spektroskopiemessung. Aus logistischen Gründen war aber eine kürzere Zeitdauer leider nicht möglich.

5.5 Weiterführende Untersuchungen

Zu den weiterführenden Untersuchungen zu dieser Arbeit gehört die Verifizierung des Anstiegs von Glx als Folge von langandauernder intensiver aerober Ausdauerleistung. Dazu wäre die Untersuchung mit der STEAM-Sequenz vorteilhafter gewesen, da die Glutamat- und Glutamiresonanzen in ihrem Kopplungsverhalten mit Echozeiten von 10-20ms besser aufgelöst werden können als mit der hier verwendeten PRESS-Methode [21, 22]. Erste Ansätze für eine Verbesserung der Glutamin- und Glutamatquantifizierung in der Spektroskopie bei 3T sind kürzlich veröffentlicht worden [137, 156].

Das Studiendesign müsste so geändert werden, dass nach einer Bestätigung eines Glx Anstieges, auch unterschieden werden kann, ob dieser Anstieg eine Folge der Dehydratation oder der Ausdauerbelastung ist. Ein möglicher Ansatz dazu wäre die Gegenüberstellung von zwei identischen, langandauernden, intensiven, aeroben Ausdauerbelastungen. Die eine Belastung müsste mit Flüssigkeitsersatz und die andere ohne Flüssigkeitsersatz erfolgen.

Eine weitere mögliche Fragestellung wäre auch, ob unterschiedlich induzierte Dehydratationszustände (z.B durch Wärmeexposition, Diuretika, Flüssigkeitsrestriktion) die gleichen Ergebnisse liefern.

Kapitel 6

Zusammenfassung

Die Auswirkungen von Dehydratation, die durch langandauernde aerobe Belastung induziert wurde, auf die Leistungsfähigkeit des Menschen ist in der Vergangenheit intensiv erforscht worden. Dennoch liegen keine *in vivo* Studien am Menschen vor, die untersuchen, ob es durch Dehydratation zu physiologischen Änderungen im Hirn kommt.

Mit der Magnetresonanz-Spektroskopie (MRS), die sich im klinischen Alltag als Werkzeug zur nicht-invasiven Untersuchung von *in vivo* Stoffwechselvorgängen im Hirn bewährt hat, liegt im Prinzip eine geeignete Methode vor, um diese Prozesse zu erforschen. Mit der vorliegenden Studie wurden zum ersten Mal *in vivo* am Menschen mögliche Folgen von Dehydratation für den Hirnstoffwechsel untersucht.

Dazu wurden die folgenden Hauptfragestellungen beleuchtet:

- Können durch eine Dehydratation in Folge einer körperlichen Belastung Veränderungen von zerebralen Osmolyte resultieren?
- Kann nach einer Dehydratation eine Flüssigkeitsverschiebung zwischen den Flüssigkeitsräumen im Hirn beobachtet werden?
- Können durch langandauernde Belastungen Verschiebungen in den der ^1H -MRS zugänglichen Metaboliten gemessen werden?

Zwei Studien wurden zu diesen Fragestellungen durchgeführt. Die erste Studie durchliefen 14 gesunde männliche Probanden (Alter: 26.6 (22.7/29.8) Jahre). Sie wurden vor und direkt nach einer 2.5 Stunden dauernden Dehydratationsbelastung, sowie nach einer drei stündigen Rehydratationsphase mit Hilfe der ^1H -Spektroskopie untersucht. Die Probanden wurden mit einer PRESS-Sequenz (TE = 30ms, TR = 6000ms, NEX = 64, VOI = 8ml) in der okzipitoparietalen grauen Substanz und in der okzipitoparietalen weißen Substanz rechts und links spektroskopiert. Zusätzlich erfolgte in

jedem Untersuchungsvolumen eine T_2 -Relaxationszeitmessung nach der Methode von Ernst et al. [46]. Die akquirierten Spektren wurden mit dem kommerziell erhältlichen Programm LCModel quantifiziert. Die T_2 -Relaxationszeitmessungen wurden mit der Auswertsoftware SAGE bearbeitet.

Die Dehydratationsbelastung erfolgte auf einem Fahrradergometer bei einer Intensität von 60% der individuellen anaeroben Schwelle. Während der Belastung wurde die verlorene Flüssigkeitsmenge der Athleten nicht ersetzt, so dass sie nach der Belastung um 3.7 (3.4/4.1)% ihres Körpergewichts dehydriert waren. In der Rehydratationsphase wurde 150% der verlorenen Flüssigkeitsmenge durch ein Elektrolytgetränk ersetzt. Nach jeder NMR-Messung erfolgte eine venöse Blutentnahme um die Parameter Hämoglobin (Hb), Hämatokrit (Hkt), Natrium (Na^+), Kalium (K^+), Calcium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}), Chlorid (Cl^-) sowie die Serumosmolalität (Osm) zu bestimmen.

Die Auswertung der erhobenen Daten ergab, dass durch die Dehydratationsbelastung eine Hämokonzentration und durch die Rehydratationsphase eine Hämodilution induziert wurde. Alle Blutparameter folgten dem in der Literatur beschriebenen Verlauf [5, 58, 100, 108, 109, 141]. Hb, Hkt, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- und Osm wurden durch die Dehydratation erhöht und durch die Rehydratation wieder erniedrigt. Die Quantifizierung der Spektren ergab, dass sich die Metabolite *myo*-Inosit (mI), N-Azetylaspartat und N-Azetylaspartylglutamat (tNAA), Kreatin (Cr) und Glyzerophosphocholin und Phosphocholin (Cho) über den Verlauf der Studie weder in der grauen noch in der weißen Substanz signifikant änderten. Dieser Verlauf entspricht den Daten bereits veröffentlichter Studien, welche die Auswirkungen einer akuten Hyperosmolalität auf das Hirn im Tiermodell untersucht haben [27, 85, 115]. Die absolute und relative Konzentration vom Glutamat und Glutamin (Glx) erhöhte sich durch die Dehydratationsbelastung in der grauen und weißen Substanz links signifikant. In der weißen Substanz rechts konnte auch eine Erhöhung beobachtet werden, die allerdings nicht signifikant war. Dieses Ergebnis lässt sich durch zwei unterschiedliche Theorien erklären. Verbalis und Gullans [148] konnten nach der Korrektur einer Hyponatriämie bereits innerhalb der ersten 24 Stunden einen Anstieg der Glutamatkonzentration im Hirn von 75% nachweisen, während das bei den anderen Osmolyten nicht möglich war. Die gemessene Erhöhung der Glx-Konzentration könnte also eine Reaktion des Hirns auf die steigende Plasmaosmolalität sein, um den steigenden osmotischen Druck auszugleichen. Eine andere Erklärung liefern die Ergebnisse von Guezennec et al. [62]. Sie konnten bei Ratten, die bis zur Erschöpfung laufen mussten, einen Anstieg von Glutamin von 30-75% nachweisen. Sie begründeten den Anstieg mit der Fähigkeit des Hirns, das toxisch wirkende Ammoniak, welches sich im Hirn bei körperlicher Belastung anrei-

chert, durch die Synthese von Glutamin zu deaminieren und somit die Toxizität zu senken. Somit könnte der Anstieg der Glx-Konzentration auch eine Folge der erhöhten Glutaminsynthese nach erhöhtem Hirnammoniakspiegel sein. Weitere Studien sind erforderlich, um die genaue Ursache des Glx-Anstiegs zu klären. Die Auswertung der T₂-Relaxationszeitmessung ergab zwar einen signifikanten Anstieg des Atrophieindex nach der Rehydratationsphase. Dieser Anstieg war allerdings unterhalb der Nachweisgrenze und dürfte aus diesem Grund rein zufällig entstanden sein. Somit konnte keine Flüssigkeitsverschiebung zwischen dem Gewebewasser und dem Liquor cerebrospinalis (CSF) nachgewiesen werden.

In der zweiten Studie wurden die Auswirkungen einer langandauernden Ausdauerbelastung auf den Hirnstoffwechsel untersucht. Dazu wurden 6 Probanden am *real*,-Berlin Marathon 2002 und 7 Probanden am *real*,-Berlin Marathon 2003 untersucht. Die Akquirierung der Spektren erfolgte jeweils in der Woche vor dem Marathon und direkt nach Beendigung des Laufs. Die Probanden wurden mit einer PRESS-Sequenz (TE = 30ms, TR = 6000ms, NEX = 64, VOI = 8ml) in der okzipitoparietalen grauen Substanz und in der parietalen weißen Substanz rechts spektroskopiert. Zusätzlich erfolgte bei den 7 Probanden des *real*,-Berlin Marathon 2003 in jedem Voxel eine T₂-Relaxationszeitmessung nach der Methode von Ernst et al. [46]. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit LCModel und SAGE. Nach jeder NMR-Messung erfolgte eine venöse Blutentnahme zur Bestimmung des Hb und Hkt.

Die Auswertung der Blutparameter Hb und Hkt ergab, dass die Athleten, obwohl sie freien Zugang zu Getränken während des Laufs hatten, durch die Marathonbelastung um 1.7% dehydrierten. Die quantitative Auswertung der Spektren ergab, dass sich die absoluten und relativen Konzentrationen von mI, tNAA, Cr, Cho und Glx vor und nach der Marathonbelastung nicht signifikant voneinander unterschieden. Somit konnte eine Akkumulation von Glutamin, wie sie in der Studie von Guezennec et al. [62] beschrieben wurde, nicht bestätigt werden. Dieses Ergebnis ist jedoch mit Vorsicht zu interpretieren, da zwischen dem Zieleinlauf der Probanden und der zweiten NMR-Messung aus logistischen Gründen eine Zeit von mindestens einer Stunde lag. Da damit zu rechnen ist, dass direkt nach Abbruch einer Belastung der Abbau des akkumulierten Glutamins beginnt, könnte zum Zeitpunkt der zweiten Messung ein etwaiger Anstieg der Glx-Konzentration bereits wieder abgebaut worden sein. Um eine definitive Aussage über die Auswirkung von langandauernder intensiver Ausdauerbelastung auf den Hirnstoffwechsel treffen zu können, sind Untersuchungen unter besser kontrollierbaren Bedingungen nötig. Die Analyse der T₂-Relaxationszeitmessung zeigte keine signifikanten Änderungen. Eine Flüssigkeitsverschiebung zwischen dem Gewebewasser und der CSF kann somit ausgeschlossen werden.

Literaturverzeichnis

- [1] ADOLPH, E. F. ; ASSOCIATES: *Physiology of Man in the Desert*. New York: Interscience, 1947
- [2] ARIEFF, A. I.: Central nervous system manifestations of disordered sodium metabolism. In: *Clin Endocrinol Metab* 13 (1984), S. 269–294
- [3] ARIEFF, A. I. ; KLEEMAN, C. R.: Studies on mechanisms of cerebral edema in diabetic comas: effect of hyperglycemia and rapid lowering plasma glucose in normal rabbits. In: *J Clin Invest* 52 (1973), S. 571–583
- [4] BARKER, P. B. ; SOHER, B. J. ; BLACKBAND, S. J. ; CHATHAM, J. C. ; MATHEWS, V. P. ; BRYAN, R. N.: Quantitation of proton NMR spectra of the human brain using tissue water as an internal concentration reference. In: *NMR Biomed* 6 (1993), S. 89–94
- [5] BARR, S. I. ; COSTILL, D. L. ; FINK, W. J.: Fluid replacement during prolonged exercise: effects of water, saline, or no fluid. In: *Med Sci Sports Exerc* 23 (1991), S. 811–817
- [6] BARTHA, R. ; DROST, D. J. ; MENON, R. S. ; WILLIAMSON, P. C.: Comparison of the Quantification Precision of Human Short Echo Time ^1H Spectroscopy at 1.5 and 4.0 Tesla. In: *Magn Reson Med* 44 (2000), S. 185–192
- [7] BIRKEN, D. L. ; OLDENDORF, W. H.: N-acetyl-L-aspartic acid: a literature review of a compound prominent in ^1H -NMR spectroscopic studies of brain. In: *Neurosci Biobehav Rev* 13 (1989), S. 23–31
- [8] BLOCH, F. ; HANSEN, W. W. ; PACKERT, M. : Nuclear induction. In: *Phys Rev* 69 (1946), S. 127
- [9] BLOMSTRAND, E. : Amino acids and central fatigue. In: *Amino Acids* 20 (2001), S. 25–34

- [10] BLOMSTRAND, E. ; HASSMÉN, P. ; EK, S. ; EKBLOM, B. ; NEWSHOLME, E. A.: Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on perceived exertion during exercise. In: *Acta Physiol Scand* 159 (1997), S. 41–49
- [11] BLOMSTRAND, E. ; PERRETT, D. ; PARRY-BILLINGS, M. ; NEWSHOLME, E. A.: Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions of the rat. In: *Acta Physiol Scand* 136 (1989), S. 473–481
- [12] BOTTOMLEY, P. A. *Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy*. US patent no. 4480228. 1984
- [13] BOTTOMLEY, P. A.: Spatial localication in NMR spectroscopy in vivo. In: *Ann N Y Acad Sci* 508 (1987), S. 333
- [14] BOTTOMLEY, P. ; EDELSTEIN, W. A. ; FOSTER, T. H. ; ADAMS, W. A.: In vivo solvent-suppressed localized hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy: a window to metabolism? In: *Proc Natl Acad Sci USA* 82 (1985), S. 2148–2152
- [15] BRADFORD, H. F. ; WARD, H. K. ; THOMAS, A. J.: Glutamine - a major substrate for nerve endings. In: *J Neurochem* 30 (1978), S. 1453–1459
- [16] BRAND, A. ; RICHTER-LANDSBERG, C. ; LEIBFRITZ, D. : Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glia and neuronal cells. In: *Dev Neuroscience* 15 (1993), S. 289–298
- [17] BRENNER, R. E. ; MUNRO, P. M. ; WILLIAMS, S. C. ; BARKER, J. D. ; HAWKINS, C. P. ; LONDON, D. N. ; McDONALD, W. I.: The proton NMR spectrum in acute EAE: the significance of the change in the Cho:Cr ratio. In: *Magn Reson Med* 29 (1993), S. 737–745
- [18] BROOKS, W. M. ; FRIEDMAN, S. D. ; STIDLEY, C. A.: Reproducibility of ^1H -MRS In Vivo. In: *Magn Reson Med* 41 (1999), S. 193–197
- [19] BRUHN, H. ; FRAHM, J. ; GYNGELL, M. L. ; MERBOLDT, K. D. ; HANICKE, W. ; SAUTER, R. ; HAMBURGER, C. : Noninvasive differentiation of tumors with use of localized H-1 MR spectroscopy in vivo: initial experience in patients with cerebral tumors. In: *Radiology* 172 (1989), S. 541–548
- [20] BRUHN, H. ; FRAHM, J. ; MERBOLDT, K. D. ; HANICKE, W. ; HANEFELD, F. ; CHRISTEN, H. J. ; KRUSE, B. ; BAUER, H. : Multiple sclerosis in children:

- cerebral metabolic alterations monitored by localized proton magnetic resonance spectroscopy in vivo. In: *Ann Neurol* 32 (1992), S. 140–150
- [21] BRUHN, H. ; KRUSE, B. ; KORENKE, G. C. ; HANEFELD, F. ; HANICKE, W. ; MERBOLDT, K. D. ; FRAHM, J. : Proton NMR spektroskopie of cerebral metabolic alterations in infantile peroxisomal disorders. In: *J Comput Assist Tomogr* 16 (1992), S. 335–344
- [22] BRUHN, H. ; MERBOLDT, K. D. ; GYNGELL, M. L. ; HÄNICKE, W. ; FRAHM, J. ; SCHAUDER, P. ; BRUNNER, G. ; HELD, K. ; FRÖHLICH, J. ; HÄUSSINGER, D. ; ROSS, B. D.: Proton MRS of metabolic disturbances in the brain of patients with liver cirrhosis and subclinical hepatic encephalopathy. In: *Book of Abstracts SMRM, Tenth Annual Meeting, San Francisco, USA* Bd. 1, 1991, S. 400
- [23] BRUHN, H. : *Metabolic Pools of the Brain Relevant to MR Spectroscopy: I. Principal Resonances*. 2001. – Lecture Notes
- [24] BRUHN, H. . *Untersuchungen physiologischer und pathologischer Stoffwechselzustände und Hirnfunktionen des Menschen mit Hilfe neuer methodischer Entwicklungen zur orts aufgelösten Magnetresonanz-Spektroskopie und funktionellen Magnetresonanz-Tomographie*. *Habilitationsschrift*, Medizinische Fakultät, Humboldt Universität zu Berlin. 2001
- [25] BURG, M. B.: Molecular basis of osmotic regulation. In: *Am J Physiol* 268 (1995), S. F983–F996
- [26] CALDWELL, J. E. ; AHONEN, E. ; NOUSIAINEN, U. : Differential effects of sauna-, diuretic-, and exercise-induced hypohydration. In: *J Appl Physiol* 57 (1984), S. 1018–1023
- [27] CHAN, P. H. ; FISHMAN, R. A.: Elevation of rat brain amino acids, ammonia and idiogenic osmoles induced by hyperosmolality. In: *Brain Res* 161 (1979), S. 293–301
- [28] CHANG, L. ; ERNST, T. ; POLAND, R. E. ; JENDEN, D. J.: In vivo proton magnetic resonance spectroscopy of the normal aging human brain. In: *Life Sci* 58 (1996), S. 2049–2056
- [29] CHEUVRONT, S. N. ; HAYMES, E. M.: Thermoregulation and Marathon Running. In: *Sports Med* 31 (2001), S. 743–762

- [30] CONLAY, L. A. ; SABOUNJIAN, L. A. ; WURTMAN, R. J.: Exercise and neuro-modulators: choline and acetylcholine in marathon runners. In: *Int J Sports Med* 13 Suppl 1 (1992), S. S141–S142
- [31] CONVERTINO, V. A. ; KEIL, L. C. ; BERNAUER, E. M. ; GREENLEAF, J. E.: Plasma volume, osmolality, vasopressin, and renin activity during graded exercise in man. In: *J Appl Physiol* 50 (1981), S. 123–128
- [32] COOPER, A. J. L.: Role of Glutamine in Cerebral Nitrogen Metabolism and Ammonia Neurotoxicity. In: *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 7 (2001), S. 280–286
- [33] COOPER, A. J. L. ; PLUM, F. : Biochemistry and Physiology of Brain Ammonia. In: *Physiol Rev* 67 (1987), S. 440–519
- [34] COSTILL, D. L. ; COTE, R. ; FINK, W. : Muscle water and electrolytes following varied levels of dehydration in man. In: *J Appl Physiol* 40 (1976), S. 6–11
- [35] CSERR, H. F. ; DEPASQUALE, M. ; NICHOLSON, C. ; PATLAK, C. S. ; PETTIGREW, K. D. ; RICE, M. E.: Extracellular volume decreases while cell-volume is maintained by ion uptake in rat-brain during acute hypernatremia. In: *J Physiol* 442 (1991), S. 277–295
- [36] CSERR, H. F. ; DEPASQUALE, M. ; PATLAK, C. S.: Regulation of brain water and electrolytes during acute hyperosmolality in rats. In: *Am J Physiol* 253 (1987), S. F522–F529
- [37] DANIELSEN, E. R. ; MICHAELIS, T. ; ROSS, B. D.: Three Methods of calibration in quantitative proton MR spectroscopy. In: *J Magn Reson, Series B* 106 (1995), S. 287–291
- [38] DAVIS, J. M. ; BAILEY, S. P.: Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. In: *Med Sci Sports Exerc* 29 (1997), S. 45–57
- [39] DE PETRIS, L. ; LUCHETTI, A. ; EMMA, F. : Cell volume regulation and transport mechanisms across the blood-brain barrier: implications for the management of hypernatremic states. In: *Eur J Pediatr* 160 (2001), S. 71–77
- [40] DECHENT, P. ; POWWELS, P. J. W. ; WILKEN, B. ; HANEFELD, F. ; FRAHM, J. : Increase of total creatine in human brain after oral supplementation of creatine-monohydrate. In: *Am J Physiol* 46 (1999), S. R698–R704

- [41] DICKINSON, W. C.: Dependence of the ^{19}F nuclear resonance position on chemical compound. In: *Phys Rev* 77 (1950), S. 736
- [42] DILL, D. B. ; COSTILL, D. L.: Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. In: *J Appl Physiol* 37 (1974), S. 247–248
- [43] DROST, D. J. ; RIDDLE, W. R. ; CLARKE, G. D.: Proton magnetic resonance spectroscopy in the brain: report of AAPM MR Task Group #9. In: *Med Phys* 29 (2002), S. 2177–2197
- [44] DURKOT, M. J. ; MARTINEZ, O. ; BROOKS-MCQUADE, D. ; FRANCESCONI, R. : Simultaneous determination of fluid shifts during thermal stress in a small-animal model. In: *J Appl Physiol* 61 (1986), S. 1031–1034
- [45] ERNST, R. R. ; ANDERSON, W. A.: Application of Fourier transform spectroscopy to magnetic resonance. In: *Rev Sci Instrum* 37 (1966), S. 93–102
- [46] ERNST, T. ; KREIS, R. ; ROSS, B. D.: Absolute Quantitation of Water and Metabolites in the Human Brain: I. Compartments and Water. In: *J Magn Reson, Series B* 102 (1993), S. 1–8
- [47] FEBBRAIO, M. A.: Does muscle function and metabolism affect exercise performance in the heat? In: *Exerc Sport Sci Rev* 28 (2000), S. 171–176
- [48] FRAHM, J. ; BRUHN, H. ; GYNGELL, M. L. ; MERBOLDT, K. D. ; HÄNICKE, W. ; SAUTER, R. : Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: initial applications to human brain in vivo. In: *Magn Reson Med* 9 (1989), S. 79–93
- [49] FRAHM, J. ; GYNGELL, M. L. ; BRUHN, H. ; MERBOLDT, K. D. ; HÄNICKE, W. ; SAUTER, R. : In: *Book of Abstracts SMRM* Bd. 1, 1988, S. 6130
- [50] FRAHM, J. ; BRUHN, H. ; GYNGELL, M. L. ; MERBOLDT, K. D. ; HÄNICKE, W. ; SAUTER, R. : Localized proton NMR spectroscopy in different regions of the human brain in vivo. Relaxation times and concentrations of cerebral metabolites. In: *Magn Reson Med* 11 (1989), S. 47–63
- [51] FRAHM, J. ; MERBOLDT, K. D. ; HÄNICKE, W. : Localized proton spectroscopy using stimulated echos. In: *J Magn Reson* 72 (1987), S. 502–508

- [52] FRAHM, J. ; MICHAELIS, T. ; MERBOLDT, K. D. ; BRUHN, H. ; GYNGELL, M. L. ; HÄNICKE, W. : Improvements in localized ^1H -NMR spectroscopy of human brain: water suppression short echo times, and 1 ml resolution. In: *J Magn Reson* 90 (1990), S. 464–473
- [53] Kap. Metabolic encephalopathy associated with water, electrolyte and acid-base disorders In: FRASER, C. L. ; ARIEFF, A. I.: *Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism*. New York: McGraw-Hill, 1987, S. 1153–1169
- [54] GEURTS, J. J. G. ; BARKHOF, F. ; CASTELIJNS, J. A. ; UITDEHAAG, B. M. J. ; POLMAN, C. H. ; POWELS, P. J. W.: Quantitative ^1H -MRS of Healthy Human Cortex, Hippocampus, and Thalamus: Metabolite Concentrations, Quantification Precision, and Reproducibility. In: *J Magn Reson Imaging* 20 (2004), S. 366–371
- [55] GONEN, O. ; GRUBER, S. ; LI, B. S. Y. ; MLYNÁRIK, V. ; MOSER, E. : Multivoxel 3D Proton Spectroscopy in the Brain at 1.5 Versus 3.0 T: Signal-to-Noise Ratio and Resolution Comparison. In: *AJNR Am J Neuroradiol* 22 (2001), S. 1727–1731
- [56] GOPINATHAN, P. M. ; PICHAN, G. ; SHARMA, V. M.: Role of dehydration in heat stress-induced variations in mental performance. In: *Arch Environ Health* 43 (1988), S. 15–17
- [57] GOVINDARAJU, V. ; YOUNG, K. ; MAUDSLEY, A. A.: Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. In: *NMR Biomed* 13 (2000), S. 129–153
- [58] GREENLEAF, J. E. ; BROCK, P. J.: Na^+ and Ca^{2+} ingestion: plasma volume-electrolyte distribution at rest and exercise. In: *J Appl Physiol* 48 (1980), S. 838–847
- [59] GREENLEAF, J. E.: Problem: thirst, drinking behavior, and involuntary dehydration. In: *Med Sci Sports Exerc* 24 (1992), S. 645–656
- [60] GREIWE, J. S. ; MELROSE, D. R. ; NARVE, M. D. ; KNOWLTON, R. G.: Effects of dehydration on isometric muscular strength and endurance. In: *Med Sci Sports Exerc* 30 (1998), S. 284–288
- [61] GRILL, V. ; BJORKMAN, O. ; GUTNIAK, M. ; LINDQVIST, M. : Brain uptake and release of amino acids in nondiabetic and insulin-dependent diabetic subjects:

- important role of glutamine release for nitrogen balance. In: *Metabolism* 41 (1992), S. 28–32
- [62] GUEZENNEC, C. Y. ; ABDELMALKI, A. ; SERRURIER, B. ; MERINO, D. ; BIGARD, X. ; BERTHELOT, M. ; PIERARD, C. ; PERES, M. : Effects of Prolonged Exercise on Brain Ammonia and Amino Acids. In: *Int J Sports Med* 19 (1998), S. 323–327
- [63] GULLAN, S. R. ; VERBALIS, J. G.: Control of brain volume during hyperosmolar and hypo-osmolar conditions. In: *Annu Rev Med* 44 (1993), S. 289–301
- [64] HARGREAVES, M. ; FEBBRAIO, M. : Limits to exercise performance in the heat. In: *Int J Sports Med* 19 Suppl 2 (1998), S. 115–116
- [65] HAUSER, G. ; FINELLI, V. N.: The biosynthesis of free and phosphatide myoinositol from glucose in mammalian tissues. In: *J Biol Chem* 238 (1963), S. 3224–3228
- [66] HEILIG, C. W. ; STROMSKI, M. E. ; BLUMENFELD, J. D. ; LEE, J. P. ; GULLANS, S. R.: Characterization of the major brain osmolytes that accumulate in salt-loaded rats. In: *Am J Physiol* 257 (1989), S. F1108–F1116
- [67] HEMMER, H. W. ; WILLIAM, T. : Functional aspects of creatin kinase in brain. In: *Dev Neuroscience* 15 (1993), S. 249–260
- [68] HENDRICKSON, W. A. ; WÜTHRICH, K. : *Macromolecular Structures*. Current Biology, London, UK, 1993
- [69] HENDRIKSON, J. : Effect of exercise on amino acid concentrations in skeletal muscles and plasma. In: *J Exp Biol* 160 (1991), S. 149–165
- [70] HERHOLZ, K. ; BUSKIES, W. ; RIST, M. ; PAWLIK, G. ; HOLLMANN, W. ; HEISS, W. D.: Regional cerebral blood flow in man at rest and during exercise. In: *J Neurol* 234 (1987), S. 9–13
- [71] HOLLIDAY, M. A. ; KALAYCI, M. N. ; HARRAH, J. : Factors that limit brain volume changes in response to acute and sustained hyper- and hyponatremia. In: *J Clin Invest* 47 (1968), S. 1916–1928
- [72] Kap. Hypernatremic and polyuric states In: L HOWARD, R. ; BICHET, D. G. ; SCHRIER, R. W.: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. 2nd. New York: Raven, 1992, S. 1753–1778

- [73] JACOBS, I. : The effects of thermal dehydration on performance of the Wingate Anaerobic Test. In: *Int J Sports Med* 1 (1980), S. 21–24
- [74] KARGOTICH, S. ; GOODMAN, C. ; KEAST, D. ; MORTON, A. R.: The influence of exercise-induced plasma volume changes on the interpretation of biochemical parameters used for monitoring exercise, training and sport. In: *Sports Med* 26 (1998), S. 101–117
- [75] KIRKENDALL, D. T.: Mechanisms of peripheral fatigue. In: *Med Sci Sports Exerc* 22 (1990), S. 444–449
- [76] KREIS, R. : Quantitative localized ^1H MR spectroscopy for clinical use. In: *J Prog Nucl Magn Reson Spectroscopy* 31 (1997), S. 155–195
- [77] KREIS, R. ; ERNST, T. ; ROSS, B. D.: Absolute Quantitation of Water and Metabolites in the Human Brain: II. Metabolite Concentrations. In: *J Magn Reson, Series B* 102 (1993), S. 9–19
- [78] KUBO, H. ; HARADA, M. ; SAKAMA, M. ; NISHITANI, H. : Reproducibility of Metabolite Concentration Evaluated by Intraclass Correlation Coefficient Using Clinical MR Apparatus. In: *J Comput Assist Tomogr* 27 (1999), S. 449–453
- [79] KWON, E. D. ; ZABLOCKI, K. ; JUNG, K. Y. ; PETERS, E. M. ; GARCIA-PEREZ, A. ; BURG, M. B.: Osmoregulation of GPC: choline phosphodiesterase in MDCK cells: different effects of urea and NaCl. In: *Am J Physiol* 269 (1995), S. C35–C41
- [80] KWON, H. M. ; HANDLER, J. S.: Cell volume regulated transporters of compatible osmolytes. In: *Curr Opin Cell Biol* 7 (1995), S. 465–471
- [81] KWON, H. M. ; HANDLER, J. S.: Cell volume regulated transporters of compatible osmolytes. In: *Curr Opin Cell Biol* 7 (1995), S. 465–471
- [82] LAUTERBUR, P. C.: Image formation by induced local interaction: Examples employing nuclear magnetic resonance. In: *Nature* 242 (1973), S. 438–439
- [83] LEE, J. H. ; ARCINUE, E. ; ROSS, B. D.: Organic Osmolytes in the Brain of an Infant with Hyponatremia. In: *N Engl J Med* 331 (1994), S. 439–442
- [84] LIEN, Y. H. H. ; SHAPIRO, J. I. ; CHAN, L. : Study of Brain Electrolytes and Organic Osmolytes during Correction of Chronic Hyponatremia - Implication for the Pathogenesis of Central Pontine Myelinolysis. In: *J Clin Invest* 88 (1991), S. 303–309

- [85] LIEN, Y.-H. H. ; SHAPIRO, J. I. ; CHAN, L. : Effects of Hypernatremia on Organic Brain Osmoles. In: *J Clin Invest* 85 (1990), S. 1427–1435
- [86] LOHR, J. W. ; MCREYNOLDS, J. ; GRIMALDI, T. : Effect of acute and chronic hypernatremia on myoinositol and sorbitol concentration in rat brain and kidney. In: *Life Sci* 43 (1988), S. 271–276
- [87] LUYTEN, P. R. ; DEN HOLLANDER, J. A.: Observation of metabolites in the human brain by MR spectroscopy. In: *Radiology* 161 (1986), S. 795–798
- [88] MARESH, C. M. ; GABAREE-BOULANT, C. L. ; ARMSTRONG, L. E. ; JUDELSON, D. A. ; HOFFMAN, J. R. ; CASTELLANI, J. W. ; KENEFICK, R. W. ; BERGERON, M. F. ; CASA, D. J.: Effect of hydration status on thirst, drinking, and related hormonal responses during low-intensity exercise in the heat. In: *J Appl Physiol* 97 (2004), S. 39–44
- [89] MARTIAL, S. ; PRICE, S. R. ; SANDS, J. M.: Regulation of aldose reductase, sorbitol dehydrogenase, and taurine cotransporter mRNA in rat medulla. In: *J Am Soc Nephrol* 5 (1995), S. 1971–1978
- [90] MAUGHAN, R. J. ; LEIPER, J. B. ; SHIRREFFS, S. M.: Restoration of fluid balance after exercise-induced dehydration: effects of food and fluid intake. In: *Eur J Appl Physiol* 73 (1996), S. 317–325
- [91] MCMANUS, M. L. ; CHURCHWELL, K. B. ; STRANGE, K. : Regulation of cell volume in health and disease. In: *N Engl J Med* 333 (1995), S. 1260–1266
- [92] MCMANUS, M. L. ; STRANGE, K. : Acute Volume Regulation of Brain Cells in Response to Hypertonic Challenge. In: *Anesthesiology* 78 (1993), S. 1132–1137
- [93] MELTON, J. E. ; PATLAK, C. S. ; PETTIGREW, K. D. ; CSERR, H. F.: Volume regulatory loss of Na, Cl, and K from rat brain during acute hyponatremia. In: *Am J Physiol* 252 (1987), S. F661–F669
- [94] MICHAELIS, T. : *Identifizierung von Metaboliten im menschlichen Hirn In Vivo mit Hilfe der lokalisierten NMR-Spektroskopie*, Göttingen, Diss., 1992
- [95] MICHAELIS, T. ; MERBOLDT, K. D. ; BRUHN, H. ; HÄNICKE, W. ; FRAHM, J. : Absolute Concentrations of Metabolites in the Adult Human Brain in Vivo: Quantification of Localized Proton MR Spectra. In: *Radiology* 187 (1993), S. 219–227

- [96] MICHAELIS, T. ; VIDEEN, J. S. ; LINSEY, M. S. ; ROSS, B. D.: Dialysis and Transplantation affect cerebral abnormalities of end-stage renal disease. In: *J Magn Reson Imag* 6 (1996), S. 341–347
- [97] MILLER, B. L. ; CHANG, L. ; BOOTH, R. ; ERNST, T. ; CORNFORD, M. ; NIKAS, D. ; MCBRIDE, D. ; JENDEN, D. J.: In vivo ¹H MRS choline: correlation with in vitro chemistry/histology. In: *Life Sci* 58 (1996), S. 1929–1935
- [98] MITCHELL, J. B. ; PHILLIPS, M. D. ; MERCER, S. P. ; BYLIES, H. L. ; PIZZA, F. X.: Post-exercise rehydration: effect of Na⁺ and volume on restoration of fluid spaces and cardiovascular function. In: *J Appl Physiol* 89 (2000), S. 1302–1309
- [99] MITTLEMAN, K. D. ; RICCI, M. R. ; BAILEY, S. P.: Branched-chain amino acids prolong exercise during heat stress in men and women. In: *Med Sci Sports Exerc* 30 (1998), S. 83–91
- [100] MONTAIN, S. J. ; COYLE, E. F.: Influence of graded dehydration on hyperthermia and cardiovascular drift during exercise. In: *J Appl Physiol* 73 (1992), S. 1340–1350
- [101] MULLINS, P. G. ; ROWLAND, L. ; BUSTILLO, J. ; BEDRICK, E. J. ; LAURIELLO, J. ; BROOKS, W. M.: Reproducibility of ¹H-MRS Measurements in Schizophrenic Patients. In: *Magn Reson Med* 50 (2003), S. 704–707
- [102] Kap. Temperature Regulation and Prolonged Exercise In: NADEL, E. R.: *Perspektives in Exercise Science and Sports Medicine: Prolonged Exercise*. Bd. 1. Cooper Publishing Group, 1988, S. 125–147
- [103] NEALE, J. H. ; BZDEGA, T. ; WROBLEWSKA, B. : N-Acetylaspartylglutamate: The Most Abundant Peptide Neurotransmitter in the Mammalian Central Nervous System. In: *J Neurochem* 75 (2000), S. 443–452
- [104] NEWSHOLME, E. A.: Application of knowledge of metabolic integration to the problem of metabolic limitation in middle distance and marathon running. In: *Acta Pysiol Scand* 128 (1986), S. 93–97
- [105] NEWSHOLME, E. A. ; BLOMSTRAND, E. : Tryptophan, 5-hydroxytryptamine and a possible explanation for central fatigue. In: *Adv Exp Med Biol* 384 (1995), S. 315–320

- [106] NOAKES, T. D.: Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. In: *Scand J Med Sci Sports* 10 (2000), S. 123–145
- [107] NOSE, H. ; MORIMOTO, T. ; OGURA, K. : Distribution of water losses among fluid compartments of tissues under thermal dehydration in the rat. In: *Jpn J Physiol* 33 (1983), S. 1019–1029
- [108] NOSE, H. ; MACK, G. W. ; SHI, X. ; NADEL, E. R.: Role of osmolality and plasma volume during rehydration in humans. In: *J Appl Physiol* 65 (1988), S. 325–331
- [109] NOSE, H. ; MACK, G. W. ; SHI, X. ; NADEL, E. R.: Shift in body fluid compartments after dehydration in humans. In: *J Appl Physiol* 65 (1988), S. 318–324
- [110] NOSE, H. ; TAKAMATA, A. ; MACK, G. W. ; ODA, Y. ; OKUNO, T. ; KANG, D. H. ; MORIMOTO, T. : Water and electrolyte balance in the vascular space during graded exercise in humans. In: *J Appl Physiol* 70 (1991), S. 2757–2762
- [111] NYBO, L. ; DALSGAARD, M. K. ; STEENBERG, A. ; MOLLER, K. ; SECHER, N. H.: Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. In: *J Physiol* 563 (2005), S. 285–290
- [112] NYBO, L. ; SECHER, N. H.: Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. In: *Prog Neurobiol* 72 (2004), S. 223–261
- [113] OKUGAWA, G. ; SEDVALL, G. C. ; AGARTZ, I. : Reduced grey and white matter volumes in the temporal lobe of male patients with chronic schizophrenia. In: *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 252 (2002), S. 120–123
- [114] PLOUTZ-SNYDER, L. L. ; CONVERTINO, V. A. ; DUDLEY, G. A.: Resistance exercise-induced fluid shifts: change in active muscle size and plasma volume. In: *Am J Physiol* 269[3 Pt 2] (1995), S. R536–R543
- [115] POLLOCK, A. S. ; ARIEFF, A. I.: Abnormalities of cell volume regulation and their functional consequences. In: *Am J Physiol* 239 (1980), S. F195–F205
- [116] POWELS, P. J. ; BROCKMANN, K. ; KRUSE, B. ; WILKEN, B. ; WICK, M. ; HANEFELD, F. ; FRAHM, J. : Regional age dependence of human brain metabolites from infancy to adulthood as detected by quantitative localized proton MRS. In: *Pediatr Res* 46 (1999), S. 474–485

-
- [117] POUWELS, P. J. ; FRAHM, J. : Regional metabolite concentrations in human brain as determined by quantitative localized proton MRS. In: *Magn Reson Med* 39 (1998), S. 53–60
- [118] PROCKOP, L. D.: Hyperglycemia, polyol accumulation and increased intracranial pressure. In: *Arch Neurol* 25 (1971), S. 126–140
- [119] PROCTERAND, W. G. ; YU, F. C.: The dependence of a nuclear magnetic resonance frequency upon chemical compound. In: *Phys Rev* 77 (1950), S. 717
- [120] PROVENCHER, S. W.: Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. In: *Magn Reson Med* 30 (1993), S. 672–679
- [121] PROVENCHER, S. W.: Automatic quantitation of localized in vivo ^1H spectra with LCModel. In: *NMR Biomed* 14 (2001), S. 260–264
- [122] PROVENCHER, S. : *LCModel and LCMgui User's Manual*. : , 2003
- [123] PURCELL, E. M. ; TORREY, H. C. ; POUND, R. V.: Resonance absorbtion by nuclear magnetic moments in solid. In: *Phys Rev* 69 (1946), S. 93
- [124] REHRER, N. J.: Fluid and Electrolyte Balance in Ultra-Endurance Sport. In: *Sports Med* 31 (2001), S. 701–715
- [125] RESTUCCIA, T. ; GOMEZ-ANSON, B. ; GUEVARA, M. ; ALESSANDRIA, C. ; TORRE, A. ; ALAYRACH, M. E. ; TERRA, C. ; MARTIN, M. ; CASTELLVI, M. ; RAMI, L. ; SAINZ, A. ; GINES, P. ; ARROYO, V. : Effects of dilutional hyponatremia on brain organic osmolytes and water content in patients with cirrhosis. In: *Hepatology* 39 (2004), S. 1613–1622
- [126] ROSS, A. J. ; SACHDEV, P. S.: Magnetic resonance spectroscopy in cognitive research. In: *Brain Res Brain Res Rev* 44 (2004), S. 83–102
- [127] ROSS, B. D. ; BLUML, S. ; COWAN, R. ; DANIELSEN, E. ; FARROW, N. ; GRUETTER, R. : In vivo magnetic resonance spectroscopy of human brain: the biophysical basis of dementia. In: *Biophys Chem* 68 (1997), S. 161–172
- [128] ROSS, B. ; BLUML, S. : Magnetic Resonance Spectroscopy of the Human Brain. In: *Anat Rec* 265 (2001), S. 54–84
- [129] SALIBI, N. ; BROWN, M. A.: *Clinical MR Spectroscopy - First Principles*. Wiley-Liss, Inc., 1998

-
- [130] SAWKA, M. N.: Physiological consequences of hypohydration: exercise performance and thermoregulation. In: *Med Sci Sports Exerc* 24 (1992), S. 657–670
- [131] SAWKA, M. N.: Hydration effects on thermoregulation and performance in the heat. In: *Comp Biochem Physiol* 128 (2001), S. 679–690
- [132] SAWKA, M. N. ; FRANCESCONI, R. P. ; PIMENTAL, N. A. ; PANDOLF, K. B.: Hydration and vascular fluid shifts during exercise in the heat. In: *J Appl Physiol* 56 (1984), S. 91–96
- [133] SAWKA, M. N. ; FRANCESCONI, R. P. ; YOUNG, A. J. ; PANDOLF, K. B.: Influence of Hydration Level and Body Fluids on Exercise Performance in the Heat. In: *JAMA* 252 (1984), S. 1165–1169
- [134] SAWKA, M. N. ; LATZKA, A. ; MATOTT, R. P. ; MONTAIN, S. J.: Hydration Effects on Temperature Regulation. In: *Int J Sports Med* 19 (1998), S. 108–110
- [135] SCHIRMER, T. ; AUER, D. P.: On the reliability of quantitative clinical magnetic resonance spectroscopy of the human brain. In: *NMR in Biomed* 13 (2000), S. 28–36
- [136] SCHNEIDER, E. ; GLOVER, G. : Rapid in Vivo Proton Shimming. In: *Magn Reson Med* 18 (1991), S. 335–347
- [137] SCHUBERT, F. ; GALLINAT, J. ; SEIFERT, F. ; RINNEBERG, H. : Glutamate concentrations in human brain using single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3 Tesla. In: *NeuroImage* 21 (2004), S. 1762–1771
- [138] SHIRREFFS, S. M. ; TAYLOR, A. J. ; LEIPNER, J. B. ; MAUGHAN, R. J.: Post-exercise rehydration in man: effects of volume consumed and drink sodium content. In: *Med Sci Sports Exerc* 28 (1996), S. 1260–1271
- [139] SIMMONS, A. ; SMAIL, M. ; MOORE, E. ; WILLIAMS, S. C. R.: Serial Precision of Metabolite Peak Area Ratios and Water Referenced Metabolite Peak Areas in Proton MR Spectroscopy of the Human Brain. In: *Magn Reson Imaging* 16 (1998), S. 319–330
- [140] SNOW, R. J. ; CAREY, M. F. ; STATHIS, C. G. ; FEBBRAIO, M. A. ; HARGREAVES, M. : Effect of carbohydrate ingestion on ammonia metabolism during exercise in humans. In: *J Appl Physiol* 88 (2000), S. 1576–1580

- [141] SPEEDY, D. B. ; NOAKES, T. D. ; KIMBER, N. E. ; ROGERS, I. R. ; THOMPSON, J. M. D. ; BOSWELL, D. R. ; ROSS, J. J. ; CAMPBELL, R. G. D. ; GALLAGHER, P. G. ; KUTTNER, J. A.: Fluid Balance During and After an Ironman Triathlon. In: *Clin J Sport Med* 11 (2001), S. 44–50
- [142] STARK, D. D. ; BRADLEY, W. G.: *Magnetic Resonance Imaging*. Mosby, 1999
- [143] STEGMANN, H. ; KINDERMANN, W. : Comparison of prolonged exercise tests at the individual anaerobic threshold and the fixed anaerobic threshold of 4 mmol.l(-1) lactate. In: *Int J Sports Med* 3 (1982), S. 105–110
- [144] STRANGE, K. : Regulation of solute and water balance and cell volume in the central nervous system. In: *J Am Soc Nephrol* 3 (1992), S. 12–27
- [145] STRANGE, K. ; MORRISON, R. ; SHRODE, L. ; PUTNAM, R. : Mechanism and regulation of swelling-activated inositol efflux in brain glial cells. In: *Am J Physiol* 265 (1993), S. C244–C256
- [146] TRACHTMAN, H. : Cell volume regulation: a review of cerebral adaptive mechanisms and implications for clinical treatment of osmolal disturbances. I. In: *Pediatr Nephrol* 5 (1991), S. 743–750
- [147] VARNIER, M. ; SARTO, P. ; MARTINES, D. ; LORA, L. ; CARMIGNOTO, F. ; LEESE, G. P. ; NACCARATO, R. : Effect of infusing branched-chain amino acid during incremental exercise with reduced muscle glycogen content. In: *Eur J Appl Physiol* 69 (1994), S. 26–31
- [148] VERBALIS, J. G. ; GULLANS, S. R.: Rapid correction of hyponatremia produces differential effects on brain osmolyte and electrolyte reaccumulation in rats. In: *Brain Res* 606 (1993), S. 19–27
- [149] VIDEEN, J. S. ; MICHAELIS, T. ; PINTO, P. ; ROSS, B. D.: Human cerebral osmolytes during chronic hyponatremia. In: *J Clin Invest* 95 (1995), S. 788–793
- [150] VON DUVILLARD, S. P. ; BRAUN, W. A. ; MARKOFSKI, M. ; BENEKE, R. ; LEITHÄUSER, R. : Fluids and Hydration in Prolonged Endurance Performance. In: *Nutrition* 20 (2004), S. 651–656
- [151] WAGENMAKERS, A. J. M. ; BROOKERS, J. H. ; COAKLEY, J. H. ; REILEY, T. ; EDWARDS, R. H. T.: Exercise-induced activation of the branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase in human muscle. In: *Eur J Appl Physiol* 59 (1989), S. 159–167

-
- [152] WALDEGGER, S. ; STEUER, S. ; RISLER, T. ; HEIDLAND, A. ; CAPASSO, G. ; MASSRY, S. ; LANG, F. : Mechanisms and clinical significance of cell volume regulation. In: *Nephrol Dial Transplant* 13 (1998), S. 867–874
- [153] WEBSTER, S. F. ; RUTT, R. A. ; WELTMANN, A. : Physiological effects of weight loss regiment practiced by college wrestlers. In: *Med Sci Sports Exerc* 22 (1990), S. 229–234
- [154] WILSON, M. M. ; MORLEY, J. E.: Impaired cognitive function and mental performance in mild dehydration. In: *Eur J Clin Nutr* 57 Suppl. 2 (2003), S. 24–29
- [155] YOUNG, L. : The determination of inositol in animal tissues. In: *Biochem J* 34 (1934), S. 1435–1443
- [156] ZHONG, K. ; ERNST, T. : Localized In Vivo Human ^1H MRS at Very Short Echo Times. In: *Magn Reson Med* 52 (2004), S. 898–901

Anhang A

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

A.1 Symbol- und Variablenverzeichnis

\vec{I}	Kerndrehimpuls
α	Atrophieindex
χ	magnetische Suszeptilität
δ	chemische Verschiebung
γ	gyromagnetisches Verhältnis
\hbar	Planksches Wirkungsquantum
ω_{HF}	Kreisfrequenz des magnetischen Hochfrequenzfeldes
ω_0	Larmorfrequenz
ω	Kreisfrequenz
σ	Abschirmkonstante
$\vec{\mu}_z$	z-Komponente des magnetischen Kernmoments
$\vec{\mu}$	magnetisches Kernmoment
\vec{M}_0	makroskopische Kernmagnetisierung
\vec{M}_e	Elektronenmagnetisierung
B_0	statisches homogenes Magnetfeld
G	Gradientenfeld
I	Spinquantenzahl

k	Boltzmann-Konstante
M_{xy}	Quermagnetisierung
M_0	Gleichgewichtsmagnetisierung
M_z	Längsmagnetisierung
N_α	Anzahl der Spins im energieärmeren Niveau
N_β	Anzahl der Spins im energiereicheren Niveau
S	NMR-Signal
S_{CSF}	NMR-Signal der CSF
S_{HW}	NMR-Signal des Gewebewassers
T_1	Spin-Gitter-Relaxationszeit
T_2	Spin-Spin-Relaxationszeit
TE	Echozeit
TM	Mischzeit
TR	Relaxationszeit

A.2 Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosin 5'-diphosphat
ATP	Adenosin 5'-triphosphat
BCAA	verzweigtkettige Aminosäuren (Branched Chain Amino Acids)
BHS	Bluthirnschranke
Cho	Cholin
Cr	Kreatin
CSF	cerebrospinale Flüssigkeit
ECF	extrazelluläre Flüssigkeit
^{19}F	Fluor
FFT	Fast Fourier Transformation
FID	Free Induction Decay (freier Induktionsabfall)
GABA	α -Aminobuttersäure
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
GM	graue Substanz (Gray Matter)
GPC	Glycerophosphocholin
^1H	Proton
^1H -NMR	^1H -Spektroskopie
HF	magnetisches Hochfrequenzfeld
5-HT	5-Hydroxytryptamin
ICF	intrazelluläre Flüssigkeit
M	Multipletaufspaltung
mI	myo-Inosit
MR	magnetische Resonanz
MRI	Magnetic Resonance Imaging
mRNA	messenger-Ribonucleinsäure
MRT	Magnetresonanz Tomographie
^{14}N	Stickstoff

^{23}Na	Natrium
NAA	N-Azetylaspartat
NAAG	N-Azetylaspartylglutamat
^{31}P	Phosphor
PCh	Phosphorylcholin
PCr	Phosphokreatin
PRESS	Point Resolved Spectroscopy
RVD	Regulierte Volumenverkleinerung
RVI	Regulierte Volumenvergrößerung
scyllo-Ins	scyllo-Inosit
SE	Spinecho
SNR	Signal-zu-Rauschverhältnis (Signal to Noise Ratio)
STE	stimuliertes Echo
STEAM	Stimulated Echo Acquisition Mode
VO_2max	maximale aerobe Sauerstoffaufnahme
VOI	Volume of Interest
WM	weiße Substanz (White Matter)
ZNS	Zentralnervensystem

Anhang B

Danksagung

Mein herzlicher Dank richtet sich an Herrn PD. Dr. rer. nat. Harald Bruhn von der Charité-Universitätsmedizin Berlin, Herrn Prof. Dr. med. Roland Wolff und Dr. med. Lars Brechtel von der Humboldt Universität zu Berlin. Sie ermöglichten mir dieses fachübergreifende Forschungsprojekt und standen mir als erfahrene Forscher bei der Planung und Durchführung von Experimenten hilfsbereit zur Seite.

Mein Dank gilt auch allen Personen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere Dr. rer. nat. Timo Schirmer von der General Electric Company und Prof. Dr. Josef Holzwarth vom Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft.

Ich durfte in Berlin viele schöne und bereichernde Momente erleben, an die ich mich immer gerne zurückerinnern werde. Dafür danke ich Nadine und all meinen Freunden, die mich in dieser Zeit begleitet haben.

Ob ich zum Höhenflug ansetzte oder kurz vor einer Bruchlandung stand, Ihr habt mich jederzeit unterstützt. Vielen Dank Euch, meinen Eltern, für alles, was man nur schlecht in Worte fassen kann.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbständig ohne fremde Hilfe verfasst und nur die angegebene Literatur und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Die Dissertation wurde bisher weder vollständig noch teilweise einer anderen Hochschule mit dem Ziel, einen akademischen Grad zu erwerben, vorgelegt.

Zürich, den 19.06.2005

Marc Bolliger